

---

# ANNALES

## DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

### CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA DIPHTÉRIE

(3<sup>e</sup> MÉMOIRE)

PAR MM. E. ROUX ET A. YERSIN

---

Depuis deux ans, un grand nombre de travaux ont été publiés sur la diphtérie; ils confirment, pour la plupart, les résultats obtenus par M. Klebs, par M. Löffler, et aussi ceux que nous avons exposés dans ce recueil <sup>1</sup>.

La diphtérie est caractérisée par le bacille décrit par MM. Klebs et Löffler; pour faire le diagnostic précis de cette maladie, il suffit de mettre ce bacille en évidence. Il est facile d'arriver à ce résultat par l'examen microscopique et l'ensemencement sur le sérum, selon le procédé indiqué par M. Löffler. Ces moyens de diagnostic, qui mettent sous nos yeux et entre

1. Voir ces *Annales*, décembre 1888 et juin 1889.

Parmi les travaux publiés récemment, nous citerons ceux de MM. Zarniko (*Centralbl. f. Bact.*, t. VI, 1889), Sponk, Kolisko et Paltauf (*Cent. f. Bact. u. Paras.*, t. V, n° 22, 24 mai 1889), qui ont trouvé le bacille spécifique dans les cas de diphtérie qu'ils ont examinés, et constaté la formation du poison spécial dans les cultures. M. Escherich (*Id.*, t. VII, 27 janv. 1890) signale la réceptivité des jeunes chiens pour la diphtérie, et insiste sur le diagnostic de la maladie au moyen de l'ensemencement sur sérum. Il fait connaître que le bacille spécifique peut exister dans la bouche 3 jours après la disparition des fausses membranes.

Dans un mémoire où il étudie les lésions de la diphtérie et le bacille spécifique, M. Babès (*Virchow's Archiv*, vol. 119, Heft 3, 1890) dit que les jeunes lapins sont

nos mains la cause même de la maladie, sont surtout précieux dans les cas où le diagnostic est difficile, même pour des médecins exercés. Nous les avons employés dans plus de cent cas de diphtérie, et nous pensons que seuls ils permettent un diagnostic scientifique. Aussi commencerons-nous ce travail par l'exposé de la technique qu'il convient de suivre pour rechercher le bacille spécifique dans les fausses membranes.

## I

## DIAGNOSTIC DE LA DIPHTÉRIE.

Lorsqu'on se trouve en présence d'une angine à fausses membranes, il faut enlever un fragment de celles-ci avec un tampon de coton hydrophile tenu à l'extrémité d'une pince ou fixé à une tige résistante. Les débris membraneux, essuyés sur du papier buvard, sont frottés sur des lamelles, de façon que l'enduit qui reste à la surface du verre vienne de la fausse membrane et ne soit pas formé par du mucus buccal. Les lamelles, séchées et passées dans la flamme, sont colorées, les unes au bleu de Loeffler, les autres au violet de gentiane d'après la méthode de Gram. La préparation, lavée à l'eau, est examinée

très sensibles au virus diphtérique. Il croit que le streptocoque qui accompagne presque toujours le bacille diphtérique joue un rôle dans la production des fausses membranes.

M. Klein (*Cent. f. Bact. u. Paras.*, 1890) a isolé des fausses membranes deux bacilles semblables à celui de MM. Klebs-Loeffler. L'un ne pousse que très peu sur la gélatine, l'autre y végète abondamment à la température de la chambre; c'est ce dernier que M. Klein regarde comme le bacille de la diphtérie. D'après M. Klein, les chats prennent facilement la diphtérie et peuvent se la communiquer entre eux. Les vaches seraient aussi sensibles à l'action du virus diphtérique. Après l'inoculation, il apparaît sur le pis des pustules qui contiennent le bacille; celui-ci peut passer dans le lait qui pourrait être alors un agent de propagation de la diphtérie.

M. Loeffler, dans une conférence qu'il a faite sur la diphtérie (*Deutsch. medic. Woch.*, n° 5 et n° 6, 1890), rapporte de nouvelles expériences sur la production du poison diphtérique.

MM. Brieger et Fraenkel (*Berl. kl. Woch.*) ont étudié les principales propriétés du poison diphtérique; ils se sont efforcés de l'obtenir à l'état de pureté; ils pensent que c'est une substance de nature albuminoïde dont ils donnent une formule chimique.

M. Max Beck (*Zeitschr. f. Hygiene*, vol. VIII, 3 Heft, 1890) a fait des expériences d'infection sur des cobayes placés dans une caisse infectée par le bacille diphtérique. Il a aussi étudié les lésions de la diphtérie.

MM. Prudden et Northrup (*Am. Journ. of med. sc.*, juin 1889) n'ont pas trouvé le bacille de MM. Klebs et Loeffler dans certains cas de diphtérie; ils ont toujours pu isoler un streptocoque des fausses membranes; ils attribuent un rôle spécifique à ce streptocoque.



humide avec un objectif à immersion homogène<sup>1</sup>. Au milieu des autres microbes, les bacilles diphtériques, souvent groupés en amas, apparaissent sous forme de bâtonnets à bouts un peu amincis et arrondis, légèrement recourbés, renflés en poire ou en massue, granuleux et inégalement teintés. Par la méthode de Gram, ils se colorent d'une manière intense. Ils ne font jamais défaut dans la diphtérie, et avec un peu d'habitude on les distingue facilement de tous les autres bacilles. Dans certains cas graves, nous les avons trouvés presque à l'état de culture pure; d'ordinaire, ils sont mélangés à beaucoup d'autres microbes<sup>2</sup>, mais, en parcourant les préparations, on rencontre des petits paquets de bacilles caractéristiques. En général, les pseudo-membranes de la bouche en renferment un plus grand nombre que celles de la trachée, retirées au moment de la trachéotomie. Les fausses membranes diphtériques fétides contiennent, en même temps que les bacilles spécifiques, beaucoup d'organismes microscopiques divers; ce sont ces derniers qui leur donnent une mauvaise odeur et les rendent friables. Au milieu de la masse énorme de microbes que ces membranes altérées laissent à la surface des lamelles, il est parfois difficile de distinguer le microbe de la diphtérie. On peut tourner la difficulté, en les durcissant dans l'alcool et en faisant des coupes, que l'on colore par la méthode de Gram et l'éosine. En arrière de la couche superficielle, riche en microbes vulgaires, on trouve, emprisonnés dans la fibrine, des petits amas très nets de bacilles spécifiques.

Cet examen est très rapide : il ne demande que quelques minutes, et dans la grande majorité des cas il donne des rensei-

1. Au lieu du bleu de Loeffler, nous employons un bleu composé de violet dahlia et de vert de méthyle. On mélange une partie d'une solution aqueuse à 10/100 de violet à trois parties d'une solution aqueuse de vert à 40/100, et on ajoute assez d'eau pour avoir une belle teinte bleue, pas trop foncée. Cette liqueur se conserve limpide pendant très longtemps : elle ne donne pas de précipité. Il suffit de mettre sur la lamelle à examiner une goutte de ce bleu, d'appliquer celle-ci presque aussitôt sur la lame porte-objet, en essuyant l'excès de matière colorante. Sous le microscope, on voit que, parmi tous les bacilles des fausses membranes, ce sont les bacilles spécifiques qui se colorent le plus vite et avec le plus d'intensité.

2. On y rencontre des cocci variés, des streptocoques, des bacilles grêles ou épais. Il serait intéressant d'isoler toutes ces espèces, et d'étudier leur action sur le bacille spécifique. Les microbes liquéfiant rapidement le sérum ne sont pas très nombreux dans les fausses membranes.

gnements tout à fait précis. Il peut être pratiqué sur des fausses membranes sèches, et nous avons pu, plusieurs fois, reconnaître la diphtérie sur des membranes, desséchées rapidement sur un linge ou sur du papier buvard, et qui nous étaient adressées par des confrères éloignés.

Le médecin qui soigne les diphtériques tirera des renseignements utiles de l'examen systématique des fausses membranes, fait chaque jour au microscope. Quand la maladie marche vers la guérison, les bacilles spécifiques deviennent moins nombreux, tandis que les microbes d'impureté augmentent dans les pseudo-membranes, qui sont plus minces, moins élastiques et plus friables. Quelquefois, même au début de la diphtérie, on peut prédire une issue favorable, si on constate qu'il y a peu de bacilles spécifiques et beaucoup d'autres microbes, notamment certains cocci. Ces pronostics basés sur l'examen microscopique se sont vérifiés plus d'une fois dans le service de M. le docteur Jules Simon, à l'hôpital des Enfants malades <sup>1</sup>.

Si l'on veut établir le diagnostic de la diphtérie d'une façon absolument certaine, il faut isoler le bacille spécifique et l'obtenir à l'état de culture pure. Ce problème, qui au premier abord paraît difficile, peut être résolu très rapidement par l'ensemencement de la fausse membrane sur le sérum coagulé, d'après le procédé de M. Lœffler. A ce sujet, nous ne pouvons que répéter ce que nous avons dit dans notre mémoire de 1888 : le sérum est un milieu si favorable à la croissance du bacille diphtérique que celui-ci y forme des colonies très apparentes en moins de 24 heures, alors que la plupart des microbes d'impureté ont à peine commencé à végéter <sup>2</sup>. Il suffit, en effet, de gratter légèrement le fragment de fausse membrane, qui a déjà servi à l'examen microscopique, avec une spatule de platine, et de passer celle-ci à la surface d'un tube de sérum; sans recharger la spatule on ensemence successivement deux ou trois tubes. Cette spatule, qui est formée par un gros fil de platine aplati à l'extrémité, peut servir à faire directement une prise de semence sur les muqueuses recouvertes

1. Pour nous, il n'est pas douteux que certains microbes gênent le développement du bacille spécifique; il faut rechercher ces espèces et les mettre en concurrence avec le bacille diphtérique. Quelques essais que nous avons fait dans cette direction seront continués; ils donneront peut-être des indications thérapeutiques.

2. Le streptocoque qui est toujours présent dans les fausses membranes donne des colonies très petites sur sérum, et elles y croissent lentement.



de fausses membranes <sup>1</sup>; on gratte légèrement avec le bout aplati, et on étale sur un ou plusieurs tubes la petite quantité de matière ainsi prélevée. Les tubes de sérum sont mis à l'étuve à 35°, et le plus souvent après 20 heures les colonies diphtériques se distinguent nettement. Ce sont des taches arrondies, blanc grisâtre, dont le centre est plus opaque que la périphérie. Elles restent petites sur les premiers tubes semés, parce qu'elles sont très serrées, tandis qu'elles s'étalent et grossissent sur les tubes ensemencés les derniers, et prennent en 48 heures un aspect tout à fait caractéristique <sup>2</sup>. Quand on ensemence par comparaison des tubes de sérum, avec une fausse membrane diphtérique et avec l'enduit qui recouvre la muqueuse dans les cas d'angines non spécifiques, l'aspect de ces tubes est tout à fait différent après un séjour de 20 heures à l'étuve. Sur ceux ensemencés avec la diphtérie vraie, on voit un grand nombre de colonies presque toutes semblables, tandis que sur les autres il n'y a souvent pas encore de culture bien nette <sup>3</sup>. Il est rare que, dans les cas de diphtérie, le développement des organismes d'impureté empêche de reconnaître le bacille spécifique. On ne doit pas se borner à constater l'aspect des colonies, il faut faire des préparations sur lamelles et les examiner au microscope, après coloration. Quelquefois, en effet, il y a sur les tubes de sérum des colonies très semblables à celles de la diphtérie, et qui sont formées par un coccus. Ce coccus croît très bien sur le sérum; après 20 heures ses colonies ont la dimension de celles de la diphtérie; mais, après 36 et 48 heures de séjour à l'étuve, elles sont moins volumineuses que les colonies diphtériques de même âge. De plus, elles prennent en vieillissant une teinte jaune qui rend toute confusion impossible. Nous avons rencontré des colonies d'un autre coccus qui simulaient celles de la diphtérie, elles restaient grisâtres en vieillis-

1. Chez certains enfants difficiles à examiner, il est quelquefois difficile de bien porter la spatule sur le point de la gorge recouvert par la fausse membrane. Il faut avoir soin de ne pas semer du mucus buccal au lieu de la substance de la fausse membrane. — La spatule, chargée de semence, peut être introduite dans un tube de verre propre et être rapportée au laboratoire; il suffit d'humecter l'enduit sec qu'elle porte à l'extrémité pour l'ensemencer à la façon ordinaire. M. Escherich se sert d'une spatule analogue pour faire des prises de semence sur les muqueuses.

2. Pour étudier l'aspect des colonies au microscope, on peut ensemencer à la surface de sérum coagulé sur une lame de verre légèrement creuse, ou dans des boîtes de M. Pétri.

3. Dans 22 cas d'angines simples, et dans 4 cas d'angines scarlatineuses, nous avons constaté l'absence du bacille diphtérique.

sant, mais leur croissance était plus lente que celle du microbe spécifique.

La culture sur sérum réussit très bien avec les fausses membranes desséchées; il suffit de les laisser se ramollir dans un peu d'eau pure, et d'opérer ensuite comme avec des membranes fraîches. Les bacilles secs, en effet, restent vivants pendant très longtemps; à cet état, ils peuvent supporter une température de 95-98° pendant une heure. Lorsqu'on a affaire à des fausses membranes, très chargées de microbes étrangers, qui rendent difficile l'isolement du bacille spécifique, on obtient parfois de bons résultats en les séchant, puis en les chauffant, avant de les semer, dans l'étuve de Gay-Lussac pendant une demi-heure. Beaucoup de microbes vulgaires sont tués, mais les bacilles diphtériques résistent <sup>1</sup>.

Quand on a reconnu, à l'examen microscopique, qu'une colonie est formée de bacilles spécifiques, il faut préparer des cultures pures pour essayer leur action sur les animaux. Les colonies, obtenues par ensemencement direct des fausses membranes, contiennent presque toujours quelques germes étrangers; il est nécessaire de les purifier. On y réussit facilement en prélevant sur l'une d'elles, avec un fil de platine ou de verre, un peu de semence que l'on dilue dans 10<sup>cc</sup> de bouillon pur, contenus dans un tube à essai; on agite vivement le tube <sup>2</sup>, de façon à répartir les bacilles dans le liquide, et, avec un fil de platine aplati à l'extrémité, on prend un peu de la dilution pour l'étaler à la surface du sérum. Après 24 heures à l'étuve, les colonies sont très apparentes; elles peuvent servir à faire des inoculations et des ensemencements. Grâce à l'emploi du sérum il est facile, en 48 heures, de préparer des cultures pures du bacille de la diphtérie en partant des fausses membranes, et de lever ainsi tous les doutes sur la nature de la maladie. La gélose nutritive ne présente pas les mêmes avantages que le sérum; le bacille spécifique pousse bien sur ce milieu, mais la plupart des microbes qui l'accompagnent y croissent au moins aussi rapidement et envahissent

1. Le streptocoque résiste aussi à ce chauffage, et des fausses membranes ainsi traitées donnent souvent, quand on en sème une parcelle dans du bouillon, des cultures pures de streptocoques.

2. Ce tube de bouillon, qui a servi à préparer la dilution, est mis à l'étuve. Si le lendemain il a donné une culture *pure*; on peut avec elle inoculer des cobayes.



bientôt la surface. M. Klein a insisté, dans ces derniers temps, sur l'emploi de la gélatine pour isoler le bacille diphtérique : la lenteur avec laquelle ce microbe se développe sur ce milieu doit absolument le faire rejeter dans la pratique.

Pour reconnaître la diphtérie, l'ensemencement sur sérum est supérieur à l'examen microscopique. Dans plusieurs cas, où l'on ne trouvait que difficilement les bacilles au microscope, l'ensemencement a donné en 24 heures un grand nombre de colonies.

Ces détails sont bien connus des microbiologistes. Si nous avons décrit longuement les moyens de faire le diagnostic de la diphtérie, c'est parce que nous espérons qu'ils seront mis en œuvre par les médecins. En lisant cette description, beaucoup penseront, peut-être, que les procédés qui y sont indiqués ne peuvent réussir que dans les laboratoires spéciaux et entre les mains de microbiologistes exercés. Ce serait de leur part une erreur : rien n'est plus facile et plus rapide que l'examen d'une fausse membrane au microscope, rien n'est plus simple que d'apprendre à isoler des colonies sur sérum.

Pour nous rendre compte de la valeur pratique de ces procédés, nous avons voulu les transporter à l'hôpital, et nous nous sommes astreints, pendant un certain nombre de jours, à examiner une partie des enfants entrés au pavillon de la diphtérie, à l'hôpital des Enfants malades. Nous prenions les sujets au hasard, sans nous occuper des signes cliniques qu'ils présentaient, nous en rapportant aux seuls procédés microscopiques et bactériologiques pour faire le diagnostic. Souvent même, on nous remettait des fausses membranes prises sur des enfants que nous n'avions point vus<sup>1</sup>. Ce n'est qu'après avoir constaté la présence ou l'absence des bacilles que nous procédions à l'examen détaillé des malades, et que nous prenions connaissance de l'observation recueillie dans le service. Chaque jour, à deux heures, nous faisons l'examen microscopique et l'ensemencement des produits fournis par les malades nouveaux, et le plus souvent nous pouvions donner un diagnostic précis le lendemain à midi. M. le Dr Jules Simon, qui a bien voulu s'intéresser à nos

1. Nous devons ici tous nos remerciements à M<sup>lle</sup> Daussoir, surveillante du pavillon de la diphtérie, qui montre autant d'empressement à aider les travailleurs, que de dévouement aux enfants malades.

recherches et nous donner toutes les facilités pour les poursuivre, a pu constater combien le diagnostic de la diphtérie gagnait en précision, par l'emploi de ces moyens scientifiques; il s'en est expliqué dans une clinique récente. Nos amis, MM. Chantemesse et Widal, se sont aussi assurés par des expériences personnelles de la valeur de ces procédés de diagnostic, et ils ont affirmé leur importance pratique. (V. *Semaine médicale*, 14 mai, et *Bull. méd.*, 15 juin.)

Du 11 avril au 26 mai, nous avons examiné 80 enfants envoyés au pavillon de la diphtérie. Chez soixante et un nous avons trouvé le bacille spécifique; parmi eux, 30 sont morts et 31 ont guéri après avoir été plus ou moins longtemps malades <sup>1</sup>. Les cas mortels comprennent 16 angines, 8 angines avec croup, et 6 croups sans angine; ceux qui se sont terminés par la guérison se divisent en 21 angines, 7 angines avec croup, et 3 croups sans angine. Neuf fois, on nous a remis des fausses membranes, et l'examen au microscope a permis de porter immédiatement un diagnostic vérifié le lendemain par la culture. Plusieurs des croups sans angine étaient à leur début, et pour faire l'ensemencement on se bornait à gratter légèrement, avec la spatule, la muqueuse des amygdales et du pharynx. Malgré l'absence de fausses membranes dans la gorge, les tubes de sérum montraient des colonies spécifiques, et le diagnostic de croup diphtérique était ainsi prouvé.

Les dix-neuf enfants qui n'avaient pas le bacille spécifique dans la bouche étaient-ils diphtériques? Nous n'avons pas hésité à déclarer que non, et la marche de la maladie a confirmé notre avis. Tous ont guéri, et leur état général était bien différent de celui des enfants porteurs du bacille. Quelques-uns avaient très peu de fausses membranes non adhérentes et qui ne se reproduisaient pas, de sorte que cliniquement on pouvait les considérer comme des diphtériques très douteux. D'autres, au contraire, avaient sur les amygdales et la luette des fausses membranes adhérentes, qui se reformaient très rapidement malgré les badigeonnages antiseptiques, et le diagnostic d'angine

1. Ces chiffres ne sauraient donner une idée du taux exact de la mortalité à l'hôpital des Enfants, pendant nos expériences. Nous n'avons pas, en effet, pris tous les entrants. Parmi eux, il y a souvent des enfants que l'on trachéotomise dès leur entrée, et sur lesquels nous n'avons fait aucune prise de semence.



diphthérique ne paraissait douteux à aucune des personnes exercées du service. Comme desensemencements répétés ne nous montraient pas de colonies spécifiques, nous avons déclaré que ces enfants n'avaient pas la diphthérie. Voici les observations résumées de trois de ces petits malades :

CH... Eugène, 3 ans 1/2. Malade depuis le 10 avril, entré à l'hôpital le 14 avec de grosses amygdales, des fausses membranes sur le pharynx et en arrière des tonsilles. On ensemence un tube de sérum. — 15 avril. Il y a une trentaine de colonies sur le sérum, elles paraissent plus humides et moins saillantes que celles de la diphthérie; elles sont formées par un coccus. L'enfant est vif, les fausses membranes se sont étendues sur les amygdales. On ensemence un nouveau tube de sérum. — 16 avril. Sur le tube d'hier, belles colonies ayant l'aspect des précédentes et formées par le même coccus; entre elles, il y a quelques colonies plus petites de streptocoques. L'enfant est gai; l'amygdale gauche surtout est recouverte de fausses membranes qui, enlevées, se reproduisent très vite. — 17 avril. Même état de l'enfant, pas de ganglions; la toux n'est pas rauque, le sommeil est bon; les fausses membranes se reforment toujours. Celles de l'amygdale gauche sont un peu brunes. On ensemence un nouveau tube. — 18 avril. Beaucoup de colonies, la grande majorité provient du coccus; il y a quelques streptocoques. L'enfant va toujours bien; les fausses membranes enlevées deux heures avant notre arrivée sont déjà reformées. — 19 avril. L'état général est toujours bon; on ensemence la fausse membrane qui recouvre l'amygdale gauche. — 20 avril. Sur le tube, assez grand nombre de colonies du même coccus. Les fausses membranes persistent toujours. — 21 avril. État général excellent. L'amygdale gauche est toujours couverte, à droite les fausses membranes disparaissent. — 23 avril. On ensemence un tube de sérum et un tube de gélose; toujours fausses membranes à gauche. — 24 avril. Sur le sérum, les mêmes colonies. Sur la gélose, colonies blanches, arrondies, formées des mêmes cocci; il y a aussi des colonies plus petites, formées par un coccus ovale et plus gros que l'autre. L'enfant va toujours très bien. — 25 avril. On enlève la fausse membrane qui recouvre l'amygdale gauche, on l'ensemence et on l'examine au microscope. Elle est formée de fibrine, de cellules épithéliales plus ou moins altérées et de cellules blanches. Elle contient en abondance un coccus en point double qui est par places à l'état de véritable culture pure. On trouve aussi quelques streptocoques, un coccus plus gros et un bâtonnet assez fin et allongé. Ces derniers microbes sont infiniment moins nombreux que le petit coccus. — Le 26 avril, la culture, faite le 25, donne de nombreuses colonies du même coccus. La fausse membrane est aujourd'hui moins étendue qu'hier. — Le 27 avril, il n'y a plus qu'un point blanc sur l'amygdale; il persiste encore le 28 et le 29. — Le 3 mai, la gorge est tout à fait nette. Pendant son séjour à l'hôpital l'enfant n'a pas eu de fièvre. Les fausses membranes ont persisté pendant quatorze jours.

J... Edmond, 2 ans 1/2. Toux rauque depuis le 16 avril. Entré le 17 avril à l'hôpital. Il a une petite fausse membrane sur l'amygdale gauche, la respiration est un peu bruyante, la toux est rauque. — Le 18 avril, petite fausse membrane sur l'amygdale gauche. On ensemence un tube de sérum avec la spatule de platine passée sur la fausse membrane. — 19 avril. Nombreuses colonies, assez semblables, au premier aspect, à celles de la diphtérie; elles sont moins développées que des colonies de diphtérie du même âge, et sont constituées par un petit coccus. L'enfant a de petits dépôts blancs sur la lèvre, le pharynx et sur l'amygdale gauche, sur laquelle la fausse membrane se reforme rapidement. La respiration est bruyante, la toux rauque et la voix assez claire. On le considère comme un croup au début. On ensemence un tube de sérum. — 20 avril. Sur le tube d'hier, nombreuses colonies arrondies, à teinte un peu jaunâtre, elles sont formées par le même petit microcoque. L'enfant est dans le même état. Les fausses membranes peu étendues persistent à gauche. — 21 avril. L'enfant n'a plus de fausses membranes dans la gorge, mais il est abattu et somnolent. La toux est rauque, il n'y a pas de ganglions. — Le 22 avril, même état. Les membranes ne se sont pas reproduites. L'enfant n'a aucune éruption. Il quitte l'hôpital. On a su que, les jours suivants, il s'était rétabli. Pendant son séjour à l'hôpital, la température rectale n'a pas dépassé 39°0 le soir.

P... Julia, 3 ans. Malade depuis le 1<sup>er</sup> mai, entrée le 4 mai avec un peu de tirage. — 5 mai. Sur les lèvres, la langue, les amygdales, il y a des fausses membranes. Pas de ganglions. L'enfant est difficile à examiner; on sème un tube de sérum avec la fausse membrane des lèvres. — 6 mai. Sur le tube, colonies nombreuses formées par un coccus, et colonies plus rares de streptocoques. Un examen soigneux montre que l'enfant a des fausses membranes sur le palais, le voile du palais, la langue et les lèvres; les amygdales sont débarrassées. Les fausses membranes sont peu épaisses, blanchâtres, adhérentes, peu élastiques. L'état général n'est pas mauvais. On sème un nouveau tube de sérum. — 7 mai. Colonies de coccus, de streptocoques en petit nombre, et trois colonies liquéfiant le sérum. Aucune colonie diphtérique. L'enfant présente une éruption de rougeole. Il est isolé aussitôt, et le 14 mai il est guéri.

Les trois cas qui précèdent étaient regardés comme des diphtéries, et on aurait persisté dans cette opinion si l'examen microscopique et l'ensemencement sur sérum n'avaient pas redressé le diagnostic. Les coccus, si abondants dans les fausses membranes qu'ils formaient par places des cultures pures, étaient-ils la cause de ces angines pseudo-membraneuses? Appartenaient-ils à une même espèce, dans les trois exemples? Étaient-ils capables de produire des fausses membranes sur les



muqueuses des animaux? Nous ne pouvons le dire, car nous n'avons pas eu le loisir de les étudier. Quoi qu'il en soit, ces observations montrent, une fois de plus, que plusieurs organismes microscopiques partagent, avec le bacille de la diphtérie, la propriété de former des pseudo-membranes sur les muqueuses. On savait déjà que le streptocoque pyogène donne aussi des exsudats fibrineux semblables à ceux de la diphtérie; MM. Chantemesse et Widal en ont cité des exemples, et MM. Wurtz et Bourges ont fait voir que, dans les angines scarlatineuses non diphtériques, le streptocoque était très abondant; M. Prudden est si bien convaincu de cette faculté du streptocoque qu'il lui attribue, à tort il est vrai, la production des pseudo-membranes diphtériques. Il y a donc plusieurs espèces d'angines microbiennes à fausses membranes. L'histoire de ces angines est à faire, elle ne sera connue que lorsqu'on aura isolé et étudié les microbes qui les causent.

Des médecins, habitués aux maladies des enfants, peuvent donc regarder comme diphtériques et envoyer au pavillon spécial des enfants qui n'ont pas cette maladie. Il n'y a pas besoin d'insister sur le danger que l'on fait courir à ces enfants en les plaçant, avec leur gorge malade, dans une salle de diphtériques. En ne s'en rapportant qu'aux signes classiques, de semblables méprises ne peuvent être évitées; on continuera à méconnaître des angines véritablement diphtériques et à prendre pour telles des angines qui ne le sont pas. L'introduction dans la pratique des moyens que nous préconisons diminuerait de beaucoup le nombre de ces erreurs<sup>1</sup>. Aussi voudrions-nous voir installer dans chaque hôpital d'enfants un service spécial pour l'examen des entrants qui ont mal à la gorge. Ce service serait comme le vestibule du pavillon de la diphtérie; il serait muni d'un microscope, de matières colorantes et d'une étuve. Dès qu'un enfant porteur de fausses membranes serait amené, un interne, habitué à ces recherches, enlèverait un fragment de la pseudo-membrane pour l'examiner au microscope et l'ensemencer. Dans la grande majorité des cas de diphtérie, les bacilles seront immédiatement reconnus, et le malade sera légitimement envoyé

1. Une difficulté peut venir de la présence du bacille pseudo-diphtérique dans la bouche; nous nous expliquons plus loin à ce sujet.

dans les salles spéciales. L'ensemencement sur sérum permettra de confirmer le diagnostic par la culture et l'inoculation. Si l'examen microscopique ne montre pas de bacilles, il faut placer l'enfant dans une chambre d'isolement, et attendre le résultat des ensemencements. L'installation d'un semblable service aurait non seulement de bons effets au point de vue pratique, mais il serait précieux pour l'instruction des élèves et l'avancement de nos connaissances sur les angines microbiennes. Aujourd'hui, tout médecin doit être convaincu que la présence du bacille de Klebs et Loeffler dans les fausses membranes, caractérise la diphtérie, comme celle du bacille de Koch dans les crachats caractérise la tuberculose pulmonaire.

## II

### LE BACILLE DE LA DIPHTÉRIE PERSISTE-T-IL DANS LA BOUCHE APRÈS LA DISPARITION DES FAUSSES MEMBRANES ?

Chez une personne atteinte d'angine diphtérique, retirons chaque jour un fragment de fausse membrane, et examinons-le au microscope après coloration sur lamelles. Tant que les pseudomembranes restent adhérentes et se reproduisent facilement, nous y voyons beaucoup de bacilles spécifiques ; mais ceux-ci deviennent plus rares à mesure que la maladie se guérit et que l'enduit membraneux se désagrège. Le changement dans la consistance de la fausse membrane correspond à son invasion par les microbes vulgaires. Mieux encore que l'examen au microscope, l'ensemencement sur sérum permet de suivre la disparition des bacilles. Fréquemment, ils persistent aussi longtemps que l'enduit membraneux et disparaissent avec lui. Nous pourrions citer de nombreux exemples d'ensemencements faits le lendemain du jour où les membranes avaient disparu, et qui n'ont pas donné de colonies spécifiques. Il y a alors un contraste saisissant entre l'aspect des tubes semés au début de la maladie et ceux ensemencés quand la muqueuse est redevenue saine. En 24 heures, les premiers montraient de nombreuses colonies diphtériques ; après plusieurs jours les seconds ne portent souvent que quelques îlots de microbes vulgaires. D'ailleurs il ne faut pas oublier que nos observations sont prises à l'hôpital, et que les lavages et les badigeonnages



antiseptiques de la bouche font périr la plupart des bacilles que ne protège plus une épaisse couche de fibrine. Lorsque le traitement a cessé et que l'enfant est rendu à ses parents, il peut arriver que quelques bacilles épargnés donnent une culture nouvelle. C'est ce que nous avons constaté plusieurs fois.

La disparition rapide du bacille de la diphtérie n'est pas toujours la règle; on peut le trouver encore, avec toute sa virulence, dans la bouche de personnes qui viennent d'avoir la maladie, alors que les pseudo-membranes n'existent plus et que la muqueuse est parfaitement saine<sup>1</sup>. Du mucus, pris en grattant avec la spatule de platine les amygdales et le pharynx, puis ensemencé sur sérum, donne des colonies spécifiques, plusieurs jours après que la maladie est achevée. Voici plusieurs exemples de ce fait :

L. P., 9 ans 1/2, entre à l'hôpital le 16 mai 1889, avec une angine moyenne. On constate par ensemencement sur sérum que les fausses membranes contiennent le bacille diphtérique. — Le 21 mai, les fausses membranes ont disparu, la gorge est tout à fait nette. — Le 24 mai, on sème deux tubes de sérum avec la spatule passée sur les amygdales. — Le 25 mai, il y a sur les tubes de nombreuses colonies diphtériques. Avec une de ces colonies on prépare une culture pure qui, inoculée à un cobaye, le fait périr en 24 heures. A l'autopsie de ce cobaye on trouve les lésions ordinaires de la diphtérie.

Trois jours après la disparition des fausses membranes, le bacille diphtérique virulent existait encore dans la bouche.

B. H., 2 ans 1/2, entre à l'hôpital le 3 avril, pour une angine diphtérique. Le 17, il y a encore quelques fausses membranes punctiformes sur l'amygdale gauche; partout ailleurs la muqueuse est saine. Avec la spatule de platine on touche un des points blanchâtres et on sème sur sérum. — Le 18 avril, nombreuses colonies spécifiques. L'inoculation montre qu'elles sont très virulentes. La gorge est tout à fait nette; l'enfant est rendue à sa famille. — Le 21 avril, nous allons visiter l'enfant chez ses parents, elle n'a rien dans la gorge. On touche avec la spatule de platine l'amygdale gauche, et on sème un tube de sérum. Le lendemain, au milieu d'un assez grand nombre d'impuretés, on reconnaît trois colonies spécifiques; elles servent à préparer trois cultures pures qui tuent rapidement les cobayes. — Le 24 avril, on fait une nouvelle prise sur l'amygdale gauche de B. H. — Le 25 avril, le

1. M. Escherich l'a trouvé trois jours après la disparition des fausses membranes.

tube de sérum ensemencé hier porte quelques colonies très peu développées. — Le 26 avril, on compte 8 colonies jaunes et 3 colonies blanchâtres; les unes et les autres sont formées par des cocci. Les jours suivants, il ne se développe aucune colonie diphtérique.

Trois jours après la disparition des fausses membranes, le bacille de la diphtérie existait encore dans la bouche.

D. L., 11 ans, entre le 14 avril à l'hôpital avec de grosses amygdales recouvertes de fausses membranes, surtout en arrière. La voix et la toux sont rauques. Avec la spatule passée sur l'amygdale droite, on ensemence un tube de sérum. — 15 avril. Nombreuses colonies spécifiques sur le tube; elles sont virulentes. D. L. suffoque, on pratique la trachéotomie. Les ganglions du cou du côté droit sont volumineux. — Le 18 avril, le cou est gros des deux côtés. — Le 20 avril, il n'y a plus de fausses membranes dans la gorge, il s'en forme sur la plaie du cou. — Le 21 avril, on enlève la canule. — Le 24 avril, les fausses membranes de la plaie du cou ont disparu, la gorge est parfaitement nette. Le 30 avril, la plaie trachéale est fermée, on fait un ensemencement sur sérum avec la spatule passée sur l'amygdale droite. — Le 1<sup>er</sup> mai, il y a d'assez nombreuses colonies sur le sérum, elles sont virulentes. — 2 mai. D. se plaint d'une douleur dans le côté gauche, il a de la fièvre, on craint une pneumonie. — 3 mai. L'enfant va beaucoup mieux; on fait une prise sur l'amygdale droite. — 6 mai. Trois colonies seulement sont développées, elles sont formées de bacilles spécifiques. Des cobayes inoculés avec deux de ces colonies meurent en trois jours. — Le 8 mai, D. va tout à fait bien, on fait un nouvel ensemencement. — Le 9 mai, il n'y a pas encore de colonies distinctes sur le sérum. On laisse le tube à l'étuve jusqu'au 12 mai: on compte alors 8 colonies punctiformes formées par des cocci. Aucune colonie diphtérique. Le contraste est frappant entre ce dernier tube et ceux ensemencés au début de la maladie, qui en 20 heures étaient couverts de colonies spécifiques.

Onze jours après la disparition des fausses membranes, le bacille de la diphtérie existait encore dans la bouche.

Nous pourrions multiplier ces exemples, mais ceux que nous venons de citer sont suffisants pour montrer que le virus persiste quelquefois dans la bouche plusieurs jours après que la guérison est complète. Le danger de la contagion ne disparaît pas avec la maladie. Les individus qui viennent d'avoir la diphtérie ne doivent donc pas reprendre trop tôt leur place dans la famille, dans l'atelier ou dans l'école. Il ne faut pas renvoyer les malades de l'hôpital, dès qu'ils n'ont plus de pseudo-membranes, et comme il y a des inconvénients à les garder dans les salles communes, il serait prudent d'aménager dans les services de



diphthériques des locaux réservés aux convalescents, et où ils seraient soumis, pendant quelques jours encore, à des lavages antiseptiques de la gorge. Nous sommes convaincus que, dans un temps qui n'est pas éloigné, le médecin ne laissera sortir les diphthériques de l'hôpital qu'après s'être assuré, par desensemencements multipliés, qu'ils n'ont plus de bacilles spécifiques dans la bouche. Les précautions que nous proposons ne s'adressent pas à un danger imaginaire<sup>1</sup>. Tous les praticiens pourraient citer des épidémies de diphthérie apportées par des enfants qui avaient eu la maladie quelque temps avant. Il est donc bon d'être averti que le germe de la diphthérie peut se conserver, non seulement dans les linges et les habits, mais aussi dans la bouche.

Quelle est la durée extrême de cette conservation du bacille diphthérique virulent sur les muqueuses? Il est difficile de répondre à cette question, parce que les observations faites à l'hôpital sont gênées par le traitement, et interrompues par la sortie des malades. Il faut des circonstances exceptionnelles pour que l'on puisse suivre les convalescents dans leurs familles. Nous avons pu le faire dans quelques cas, et voici un des exemples que nous avons recueillis.

R. P., 6 ans 1/2, entre à l'hôpital le 3 juin 1889 avec une diphthérie très grave. Les amygdales et le pharynx sont tapissés de fausses membranes; le cou est gros. — Le 4 juin, on constate par la culture qu'il y a beaucoup de bacilles spécifiques et qu'ils sont virulents. — Le 7 juin, l'état local s'est amélioré, les fausses membranes ont disparu sur les amygdales. Le cou est moins tuméfié, mais il y a de la diarrhée, une respiration haletante, de l'albumine dans les urines; le cœur bat irrégulièrement. Un nouvel ensemencement sur sérum donne de nombreuses colonies virulentes. — 14 juin. Plus de fausses membranes, la gorge est tout à fait nette. — 17 juin. L'albuminurie est moins intense. Un ensemencement fournit de nombreuses colonies virulentes. — Le 18 juin, l'enfant quitte l'hôpital. — 22 juin. La gorge est parfaitement saine; un ensemencement donne des colonies virulentes assez nombreuses. — 27 juin. On fait un ensemencement sur sérum, on obtient des colonies virulentes, mais en moins grand nombre que précédemment. — 28 juin. Nouvel ensemencement. Il ne donne qu'une colonie virulente. Ceux faits dans la suite n'ont plus donné de colonies virulentes.

Quatorze jours après la disparition des fausses membranes, il y avait des bacilles virulents dans la bouche. Rien ne dit qu'en multipliant les prises, on n'en trouverait pas pendant un temps

1. Voir la relation de l'épidémie d'Oullins, par le Dr Bard, *Lyon médical*, 1889.

plus long encore. Cette persistance des bacilles doit se rencontrer surtout dans les diphtéries méconnues ou mal soignées. N'est-elle pas la cause des récidives, qui ne sont pas extrêmement rares? Qu'un refroidissement ou que toute autre cause amène l'altération de la muqueuse, les bacilles, trouvant un terrain favorable, donneront de nouvelles cultures et reproduiront la maladie.

La conclusion de ce chapitre sera que, dans la diphtérie, le bacille spécifique peut disparaître de la bouche en même temps que les fausses membranes, ou y persister quelques jours après elles, ou même y demeurer à l'état virulent pendant un temps assez long, mais qu'il est impossible de préciser.

### III

#### CONSERVATION DU VIRUS DIPHTÉRIQUE EN DEHORS DE L'ORGANISME.

Le bacille diphtérique se conserve très longtemps vivant dans les cultures; il n'est pas rare de trouver des colonies actives, sur des tubes de sérum restés pendant plus de six mois à la température de la chambre. Des cultures en bouillon pouvaient encore être rajeunies après un séjour de cinq mois à 33° et de deux mois à 39°. Enfermées en tubes clos, sans air et à l'abri de la lumière, elles conservent plus longtemps encore leur vitalité et leur virulence. Les bacilles contenus dans de semblables tubes, datant de 13 mois, nous ont donné des cultures actives. Il ne se forme, cependant, pas de germes dans ces vieilles cultures; les microbes ont des formes renflées ou allongées; ils se colorent mal ou ne se colorent plus, mais ils périssent comme les bacilles jeunes quand on les chauffe à 58°.

Des bacilles provenant de cultures sur sérum ont été desséchés et conservés à 33° et à la température ordinaire, à l'abri de la lumière; ceux gardés à 33° ne donnaient plus de culture après trois mois, et ceux restés à la température de la chambre étaient morts après 4 mois. A la température de 45°, ils étaient stériles après 4 jours.

Les expériences, faites avec les fausses membranes, sont plus intéressantes, parce que les débris de pseudo-membranes et



les crachats diphtériques desséchés produisent souvent des infections.

Une fausse membrane, extraite de la trachée d'un enfant, au moment de la trachéotomie, est ensemencée sur sérum, puis enveloppée dans un linge. Quand elle est sèche, on plie le linge dans du papier, et on place le tout dans une armoire fermée, à la température de la chambre. Sur le sérum il s'est développé, dès le lendemain, de nombreuses colonies spécifiques. Trois mois après, on fait un nouvel ensemencement avec un fragment de la membrane sèche : après 24 heures de séjour à l'étuve, la surface du sérum porte beaucoup de colonies de bacilles diphtériques. Après cinq mois de dessiccation, la fausse membrane donne encore des colonies sur le sérum, elles croissent un peu plus lentement et sont moins nombreuses, mais elles sont formées par de beaux bacilles.

Si les débris d'une semblable pseudo-membrane étaient tombés sur une couverture, sur un matelas, ou sur un plancher, pendant longtemps ils auraient été un danger pour ceux qui auraient été exposés au contact de leurs poussières.

Une autre fausse membrane, séchée de la même façon sur un linge, et également très riche en bacilles diphtériques, a été conservée, suspendue à l'air et exposée au soleil et à la pluie, pendant les mois d'avril et de mai 1890. Les ensemencements qui ont été faits avec cette membrane, restée aux intempéries pendant un mois et demi, n'ont donné aucune colonie diphtérique.

Sous l'action du soleil et de l'humidité alternant avec la sécheresse, le virus a été détruit assez rapidement.

Les cas où la maladie paraît avoir été communiquée par des linges qui avaient servi à des diphtériques, ne sont pas rares ; on en a cité qui étaient dus à des vêtements ou à des objets de literie conservés depuis deux ans. D'après ce que nous venons de voir, ce sont surtout les objets enfermés dans un lieu où l'air ne se renouvelle pas, à l'abri du soleil et de l'humidité, qui resteront longtemps dangereux.

A l'état humide, le virus ne résiste pas à une température de 58°, maintenue pendant quelques minutes. L'eau bouillante suffit donc toujours à désinfecter les linges et les objets souillés par des produits diphtériques. Mais le virus sec supporte, sans périr, une chaleur de 98° prolongée pendant plus d'une heure. La résistance du virus desséché, aux diverses causes de

destruction, explique la persistance de la diphtérie dans certains locaux, et nous fait comprendre pourquoi l'installation des pavillons d'isolement n'a pas suffi à supprimer les cas intérieurs dans certains hôpitaux. Pour la désinfection du linge, des vêtements de la literie, les étuves à vapeur, sous pression, conviennent particulièrement. On sait quels beaux résultats ont été obtenus par le docteur Sevestre, à l'hôpital des Enfants-Assistés, depuis qu'il a exigé le passage à l'étuve de tous les objets qui ont été en contact avec les malades atteints de diphtérie<sup>1</sup>. Cette pratique si simple a presque fait disparaître les cas intérieurs, nombreux autrefois dans cet établissement. Il faut mettre à l'étuve non seulement les habits des enfants diphtériques, mais aussi la couverture dans laquelle on les apporte à l'hôpital et les vêtements des parents qui les conduisent. Les mesures qui ont réussi à l'hôpital doivent être appliquées, en ville, chez les malades<sup>2</sup>. Les règlements sanitaires peuvent beaucoup pour faire disparaître la diphtérie; mais ce qui serait plus efficace encore, c'est un changement dans les habitudes de la population, qui n'est pas éclairée sur la nécessité de la désinfection des objets souillés par les malades. Si chaque médecin s'efforçait de persuader aux familles d'envoyer les habits, la literie à l'étuve, beaucoup de cas de diphtérie seraient supprimés; mais, pour convaincre les autres, faut-il encore être convaincu soi-même.

#### IV

##### DE LA VIRULENCE DU BACILLE DIPHTÉRIQUE DANS LES FAUSSES MEMBRANES.

Pour se rendre compte de la virulence des bacilles contenus dans une fausse membrane, il faut isoler des colonies pures, semer séparément plusieurs d'entre elles dans du bouillon légèrement alcalin, et inoculer chacune des cultures ainsi obtenues sous la peau de cobayes. Les bacilles seront regardés comme

1. Voir *Progrès médical*, 3 mai, 17 mai, 24 mai 1890. Voir aussi une communication de M. Grancher sur le même sujet, *Bulletin médical*, 1890.

2. La diphtérie a beaucoup diminué au Havre, depuis que MM. les docteurs Gibart et Launay ont fait pratiquer la désinfection des locaux contaminés.



d'autant plus virulents qu'ils tueront les animaux plus rapidement<sup>1</sup>.

Depuis le début de nos recherches, nous avons étudié cent cas de diphtérie. Cinquante-trois ont amené la mort. Dans tous ces cas mortels, nous avons trouvé le bacille spécifique et nous l'avons isolé à l'état de cultures pures. Les cultures fournies par quarante de ces cas ont été inoculées à des cobayes; les plus actives les ont tués en moins de 30 heures et parfois en moins de 24 heures; d'autres moins virulentes les ont fait périr dans des temps qui ont varié entre deux et quatre jours<sup>2</sup>. Tous les animaux inoculés ont succombé. Le virus diphtérique mortel pour l'homme est donc aussi très meurtrier pour le cobaye.

Mais toutes les diphtéries n'ont pas la même gravité : à côté de celles qui tuent, il en est qui guérissent facilement. Trousseau, et depuis lui nombre de cliniciens, ont insisté sur ces formes atténuées, souvent très difficiles à reconnaître, puisque les signes cliniques sont impuissants à en démontrer la nature. On n'ose pas prononcer le nom de diphtérie à propos d'un mal de gorge avec petites plaques blanchâtres éphémères, sans gonflement des ganglions et sans altération marquée de l'état général. Si le médecin a pensé à la diphtérie, il renonce bientôt à son diagnostic devant la guérison rapide de l'affection. Cependant, ces angines si peu sévères sont quelquefois le point de départ d'une épidémie de diphtérie : il faut bien admettre alors qu'elles étaient spécifiques. Le diagnostic de ces diphtéries bénignes ne peut être établi que par l'examen microscopique des fausses membranes et l'ensemencement sur sérum.

1. Pour bien juger de la virulence des bacilles retirés d'un cas de diphtérie, il est nécessaire d'inoculer une culture pure. Il ne faut donc pas insérer directement des fragments de fausses membranes sous la peau des animaux; on obtient ainsi des résultats contradictoires. Parmi les animaux inoculés avec la même fausse membrane, les uns mourront, les autres survivront. Les microbes, étrangers à la diphtérie et présents dans la pseudo-membrane, peuvent entraver la croissance du bacille spécifique et produire de la suppuration et des septicémies. Les cultures qui ont servi dans nos expériences, étaient faites dans le bouillon; elles étaient inoculées à la dose de 1<sup>cc</sup>, après 24 à 30 heures de séjour à l'étuve à 35°. Il est possible, jusqu'à un certain point, d'établir une échelle de virulence en inoculant des cobayes, des pigeons et des lapins. Le pigeon est plus résistant à la diphtérie que le cobaye, et le lapin plus résistant que le pigeon. Chez le lapin, les inoculations sous-cutanées sont moins meurtrières que celles qui sont faites dans les veines.

2. MM. Brieger et Fränkel ont constaté les mêmes différences dans la virulence du bacille diphtérique.

Nous avons observé quarante-sept enfants diphtériques qui ont guéri; les uns ont été très gravement malades, d'autres ont eu une affection sérieuse, et d'autres ont été légèrement atteints. Nous avons pu ainsi étudier tous les degrés de la maladie, depuis ceux que l'on reconnaît à première vue, jusqu'à ceux qui pourraient passer inaperçus. Dans tous ces cas, l'ensemencement sur sérum a donné des colonies spécifiques. Qu'elles fussent issues d'un cas sévère ou d'un cas bénin, ces colonies avaient les mêmes caractères, et les bacilles qui les formaient avaient le même aspect au microscope. On en rencontrait parfois qui prenaient moins bien la matière colorante, ou qui paraissaient un peu plus courts, mais les différences étaient de celles qui ne peuvent servir à établir des distinctions entre microbes. Donc, à ne considérer que l'apparence des colonies et la forme des bacilles, tous ces cas contenaient le même organisme, tous étaient au même titre de la diphtérie, et cependant quelle différence entre la gravité des uns et la bénignité des autres !

Les cultures pures, isolées de ces diphtéries non mortelles, ont été inoculées, dans trente-neuf cas, à des cobayes; dix-sept ont amené la mort des animaux en moins de trois jours; sept ont tué dans un délai qui a varié de quatre à neuf jours; cinq n'ont fait périr qu'une partie des animaux inoculés; dix se sont montrées inactives, mais à des degrés divers, les unes donnant un œdème suivi d'escarre, les autres un œdème plus ou moins étendu, mais promptement dissipé<sup>1</sup>.

Dans les diphtéries qui guérissent, on trouve donc des bacilles très virulents, des bacilles de virulence moyenne et des bacilles sans virulence pour le cobaye. En général, les diphtéries les plus anodines sont celles qui ont donné les bacilles les moins actifs. Ce n'est pas là une règle absolue, et il n'est pas rare d'isoler d'une angine bénigne des microbes très virulents; il arrive aussi que la même fausse membrane fournit des colonies virulentes et d'autres qui ne le sont pas. Quoi qu'il en soit, la différence est saisissante entre les résultats de l'inoculation des bacilles extraits des cas virulents, et ceux retirés des cas qui ont guéri. La gravité de la diphtérie dépend donc, et des conditions parti-

1. Si, dans ces derniers cas, on avait isolé un plus grand nombre de colonies, on en aurait probablement trouvé de virulentes au milieu des non virulentes; ce qu'il importe de noter, c'est que les dernières dominaient.



culières au sujet porteur du bacille, et aussi de la virulence de ce bacille. L'expérience est d'accord avec la clinique, puisqu'elle nous montre que le virus le moins actif se rencontre surtout dans les cas les moins graves.

A côté de ces angines sans gravité, qui sont cependant de nature diphtérique, il faut placer ces croups avortés que l'on observe assez fréquemment chez les enfants. Un enfant a de la toux rauque, la voix éteinte, un peu de tirage respiratoire, sans que l'on aperçoive rien dans la gorge, si ce n'est de la rougeur. Bientôt tous ces symptômes s'amendent, et la santé redevient parfaite. Ces croups si bénins sont-ils diphtériques, renferment-ils le bacille et à quel état de virulence? Les deux exemples suivants répondent à ces questions :

M. A., 8 ans, est pris dans la nuit du 29 au 30 avril, d'un accès de toux rauque avec suffocation. Le 30 avril, il est conduit à l'hôpital. Il dort au moment où nous entrons dans la salle, il se réveille avec une respiration bruyante et la voix sourde; il n'y a rien dans sa gorge. On gratte la muqueuse du pharynx avec la spatule de platine, et on sème sur sérum. Le 1<sup>er</sup> mai, il s'est développé une quantité de colonies formées par le bacille spécifique. Avec 4 de ces colonies, on prépare 4 cultures qui sont inoculées à 4 cobayes; ces animaux ont les jours suivants un léger œdème qui disparaît bientôt. — Aujourd'hui, il y a sur l'amygdale gauche de l'enfant une petite tache blanche qui s'enlève facilement. Onensemence un nouveau tube de sérum; la respiration est moins bruyante qu'hier, la toux est moins rauque. — Le 2 mai, une quinzaine de colonies ont poussé sur le sérum, elles sont formées de bacilles spécifiques assez courts et se colorant bien. La gorge de l'enfant est tout à fait nette; il est emmené par ses parents.

D. H., 5 ans 1/2, a de la toux rauque depuis le 11 mai. Il entre à l'hôpital le 14 mai, il n'a rien dans la gorge. Le 14 mai au soir, la respiration est difficile, le tirage très marqué; on pense qu'il faudra faire la trachéotomie dans la nuit. — 15 mai. L'enfant respire mieux. La gorge est absolument nette; on sème un tube de sérum avec la spatule passée sur les amygdales, — 16 mai. Nombreuses colonies spécifiques sur le sérum; on isole 6 colonies pures; on en inocule 3 à un cobaye et 3 à un second cobaye. Le premier a un gros œdème et, les jours suivants, il se forme une petite escarre au lieu d'inoculation; le second meurt en 4 jours. — Les 17, 18 et le 19 mai, on constate que D. n'a rien dans la gorge; la voix est devenue claire, et le 19 mai, la toux est presque normale. — Le 20 mai, on gratte légèrement la muqueuse du pharynx et on fait un ensemencement. — Le 21 mai, il ne s'est développé que quelques petites colonies de coccus qui grossissent les jours suivants, sans qu'au milieu d'elles on trouve de colonies diphtériques. — Le 22 mai, D. H. sort guéri.

Ces deux enfants ont eu un croup léger mais diphtérique ; chez l'un il existait un bacille très atténué, et chez l'autre un bacille de virulence moyenne <sup>1</sup>.

Nous trouvons encore ces bacilles de virulence atténuée, à la fin des diphtéries sévères qui ont une terminaison favorable. Dans ces diphtéries, lesensemencements donnent de nombreuses colonies spécifiques, tant que les fausses membranes persistent, et quelquefois même après que celles-ci ont disparu. Ces colonies sont moins abondantes à mesure que l'on s'éloigne du début de la maladie, mais on peut en retirer de la bouche longtemps après que la guérison est complète. Injectons sous la peau de cobayes les cultures successives ainsi obtenues, et, pour mieux juger de la virulence des bacilles, inoculons séparément plusieurs des colonies isolées à chaque ensemencement. Les colonies des premiers jours sont toutes virulentes ; mais, à mesure que le temps s'écoule, on a des colonies qui sont les unes très actives, les autres moins ; il y en a même qui ne causent aucun mal aux cobayes. Ces colonies non virulentes finissent par dominer, et bientôt on ne trouve plus qu'elles. Elles ont tout à fait la même apparence que les colonies actives du début, et elles sont formées par des bacilles qui ont le même aspect que les bacilles virulents. Il semble que peu à peu les bacilles inoffensifs se substituent aux bacilles meurtriers, puis qu'ils disparaissent à leur tour. Les observations suivantes viennent à l'appui de ce que nous avançons.

R. P., 6 ans  $1/2$ , dont nous avons déjà donné l'histoire, page 399, a eu une diphtérie grave du 31 mai au 18 juin 1889, époque à laquelle il sort guéri de l'hôpital. Les fausses membranes avaient complètement disparu le 14 juin. Nous allons visiter l'enfant dans sa famille, et nous faisons des ensemencements sur sérum à diverses reprises, avec le mucus buccal recueilli en grattant légèrement la muqueuse des amygdales avec la spatule de platine. Voici les résultats de ces ensemencements :

*Prise du 22 juin.* — Nombreuses colonies, 3 inoculées sont virulentes.

*Prise du 23 juin.* — Une dizaine de colonies par tube ; 2 inoculées ne sont pas virulentes.

*Prise du 26 juin.* — Quelques colonies ; on en inocule 3, chacune à un cobaye : 3 des animaux ont de l'œdème, 2 n'ont qu'une nodosité au point d'inoculation.

<sup>1</sup> M. Escherich a trouvé des bacilles virulents chez des personnes qui n'avaient pas encore de fausse membrane.



*Prise du 27 juin.* — Quelques colonies; 2 inoculées sont virulentes.

*Prise du 28 juin.* — Sur 2 colonies inoculées, une est virulente, l'autre ne l'est pas.

*Prise du 29 juin.* — Très peu de colonies; 3 inoculées ne sont pas virulentes.

*Prise du 1<sup>er</sup> juillet.* — Aucune colonie spécifique.

*Prise du 3 juillet.* — Quelques colonies spécifiques, 3 inoculées ne sont pas virulentes.

*Prise du 5 juillet.* — Aucune colonie spécifique.

*Prise du 8 juillet.* — Aucune colonie spécifique.

Ch... Marcel, 7 ans; entré à l'hôpital le 23 novembre 1889, avec une angine diphthérique légère datant du 21 novembre. Une seule plaque sur l'amygdale gauche. Le 26 novembre, l'enfant n'a plus rien dans la gorge et est rendu à sa famille. Le 2 décembre on va le visiter chez ses parents.

*Prise du 2 décembre.* — Colonies spécifiques assez nombreuses; sur 3 inoculées une est virulente, les deux autres ne le sont pas.

*Prise du 4 décembre.* — Quelques colonies; 3 sont inoculées, 1 est virulente, 2 ne le sont pas.

*Prise du 6 décembre.* — Quelques colonies; 2 sont inoculées, elles ne sont pas virulentes.

*Prise du 9 décembre.* — Peu de colonies; 2 inoculées ne sont pas virulentes.

*Prise du 11 décembre.* — Très peu de colonies; 2 sont inoculées, elles ne sont pas virulentes.

*Prise du 17 décembre.* — Aucune colonie spécifique.

Ch... Marius, 13 mois, frère du précédent. Malade depuis le 19 novembre 1889, entre à l'hôpital le 21 novembre avec une légère angine diphthérique et de la toux rauque.

*Prise du 24 novembre.* — Il y a encore quelques petites fausses membranes. Nombreuses colonies, 5 inoculées sont virulentes.

*Prise du 28 novembre.* — Il n'y a plus de fausses membranes. Peu de colonies; 3 inoculées: 1 virulente, 2 non virulentes.

*Prise du 2 décembre.* — Très peu de colonies; on en isole 2, elles sont non virulentes.

*Prise du 4 décembre.* — Aucune colonie spécifique.

*Prise du 6 décembre.* — Aucune colonie spécifique.

*Prise du 9 décembre.* — Aucune colonie spécifique.

*Prise du 11 décembre.* — Aucune colonie spécifique.

J. G., 8 ans; entre à l'hôpital le 8 juin 1889, il tousse en croup, et a du tirage. Aucune fausse membrane dans la gorge qui est un peu rouge. L'enfant n'est pas opéré et guérit. Le 21 juin, la gorge est tout à fait nette; on fait un ensemencement qui ne donne aucune colonie spécifique. L'enfant est rendu à sa famille le 23 juin.

*Prise du 25 juin.* — Assez grand nombre de colonies; 2 inoculées sont virulentes.

*Prise du 28 juin.* — Quelques colonies; 2 sont inoculées : une est virulente, l'autre ne l'est pas.

*Prise du 1<sup>er</sup> juillet.* — Aucune colonie spécifique.

En multipliant lesensemencements et en inoculant chaque fois un plus grand nombre de colonies, on aurait obtenu des résultats encore plus nets; mais les observations qui précèdent montrent suffisamment la diminution des bacilles virulents et leur remplacement graduel par les bacilles non virulents. Dans les diphtéries sévères, les bacilles virulents persistent plus longtemps dans la bouche que dans les diphtéries bénignes <sup>1</sup>.

Les bacilles non virulents se rencontrent aussi dans les fausses membranes des cas mortels, mais ils y sont toujours en nombre très petit par rapport aux bacilles actifs.

M. J., 28 mois, meurt d'une angine toxique le 18 septembre 1889. On isole des fausses membranes un grand nombre de colonies spécifiques. 9 colonies pures sont inoculées chacune à un cobaye. De ces 9 cobayes, 1 meurt en moins de 24 heures; 6 en 24 à 26 heures; 1 en 40 heures. Un seul reste vivant; il a eu un petit œdème qui a disparu.

B. A., 5 ans, meurt d'angine et de croup en octobre 89. L'ensemencement sur sérum a donné de nombreuses colonies spécifiques. 12 de ces colonies pures sont inoculées à 12 cobayes. 1 meurt en moins de 24 heures; 4 en 36 heures, 5 en moins de 48 heures, 1 en moins de 50 heures. Un reste vivant; il a eu un œdème qui s'est induré et s'est dissipé.

Dans plusieurs autres cas d'angines mortelles, toutes les colonies inoculées se sont, sans exception, montrées très virulentes. On peut donc dire que dans les diphtéries très graves on ne trouve que très peu de bacilles non virulents, que ceux-ci sont beaucoup plus nombreux dans les cas bénins, et qu'enfin dans les diphtéries sévères, mais qui guérissent, ils sont d'autant plus fréquents que le début de la maladie est plus éloigné. De plus, parmi ces bacilles non virulents, il en est qui sont tout à fait sans action sur les animaux, tandis que d'autres produisent de l'œdème. Il paraît naturel d'admettre que, comme bien d'autres virus, celui de la diphtérie peut se trouver à divers états de

1. Dans certains cas on trouve des colonies non virulentes en assez grand nombre pendant un temps fort long après la guérison de la diphtérie. Un enfant qui avait eu la diphtérie dans sa famille et qui n'avait pas été soigné, est pris



virulence dans la nature, qu'il est susceptible d'être atténué, et que les bacilles virulents et non virulents sont des états divers d'un même organisme.

Mais la présence d'un bacille sans virulence, très semblable à celui de la diphtérie par son aspect au microscope et l'apparence de ses colonies, a déjà été signalée par divers auteurs, non seulement dans les fausses membranes diphtériques, mais aussi dans la bouche de personnes qui n'avaient pas eu la maladie. Ce bacille a été désigné sous le nom de pseudo-diphtérique; il ne peut être distingué des bacilles non virulents, isolés des cas de diphtérie bénigne et dont nous venons de parler longuement. Nous sommes donc amenés à rechercher s'il existe des relations entre le bacille diphtérique vrai et le bacille pseudo-diphtérique.

## V

### DU BACILLE PSEUDODIPHTÉRIQUE.

M. Lœffler, le premier, a signalé dans les fausses membranes croupales un bacille tout à fait semblable au bacille diphtérique, mais qui en diffère en ce qu'il n'a aucune action nocive sur les animaux. M. G. Hoffmann a rencontré ce même bacille dans la diphtérie, et aussi dans les angines scarlatineuses et rubéoliques. Après ces auteurs, beaucoup d'expérimentateurs ont trouvé ce microbe soit, dans la bouche des diphtériques, mélangé au microbe spécifique, soit dans la bouche de personnes bien portantes. Pour M. Lœffler, le bacille pseudo-diphtérique est une espèce différente du bacille diphtérique vrai. La plupart des savants qui ont écrit sur le sujet paraissent se rallier à cette opinion, et, outre l'absence de virulence, quelques-uns d'entre eux ont relevé des particularités qui distingueraient les

d'une paralysie progressive. Après avoir débuté par le voile du palais, elle s'étend à tout le corps. Il entre à l'hôpital le 29 mars 1889, il avait eu son angine le 6 février. Le 16 mai l'enfant commence à se tenir debout; un ensemencement fait sur le sérum donne de nombreuses colonies d'aspect spécifique, formées de bacilles semblables à celui de la diphtérie, mais non virulents. Un ensemencement fait le 30 mai fournit encore beaucoup de colonies; plusieurs inoculées à des cobayes ne produisent qu'un petit œdème.

cultures de ces organismes microscopiques<sup>1</sup>. D'autres expérimentateurs, au contraire, admettent que le bacille pseudo-diphtérique est la forme atténuée du bacille diphtérique vrai<sup>2</sup>.

On conçoit cependant qu'il est important de savoir quels rapports existent entre ces deux bacilles. Si l'on trouve, en effet, assez souvent dans les angines ordinaires et même dans la bouche des personnes saines, un microbe banal, donnant sur sérum des colonies identiques à celles de la diphtérie, il faut avouer que le diagnostic de la diphtérie au moyen desensemencements sur sérum perd de la rigueur que nous lui avons reconnue. Le seul aspect de la culture ne suffira pas pour se prononcer; il faudra attendre le résultat de l'inoculation. Toutes les angines bénignes que nous avons présentées comme diphtériques, parce qu'elles contenaient un bacille non virulent, ne seraient, dans ce cas, que des angines vulgaires; et la substitution graduelle d'un bacille diphtérique non virulent au bacille virulent, que nous avons signalée dans les cas de guérison, ne serait que la substitution d'un saprophyte banal à un microbe pathogène. D'un autre côté, si le bacille pseudo-diphtérique est le bacille atténué de la diphtérie, ne peut-il pas, dans certaines circonstances, reprendre sa virulence? Et comme il existe parfois dans la bouche de personnes en bonne santé, celles-ci ne sont-elles pas prédisposées à la maladie? En un mot ce bacille pseudo-diphtérique n'a-t-il pas un rôle dans l'étiologie de la diphtérie?

Avant d'aborder ces questions, examinons si, en dehors de la virulence, il y a des différences réelles entre le bacille diphtérique et celui que l'on a appelé pseudo-diphtérique.

*Caractères du bacille pseudo-diphtérique.* — Les colonies du bacille pseudo-diphtérique, cultivé sur sérum, sont identiques à celles du bacille diphtérique vrai. A la température de 33°-35°, leur croissance est rapide, et elle se continue à la température ordinaire, mais lentement. Au microscope, l'aspect du bacille qui forme ces colonies est le même que celui du bacille diphtérique. Il prend bien le bleu de Loeffler et se teint d'une façon intense par la méthode de Gram. Parfois, il se colore d'une

1. Voir Escherich. (*Cent. f. Bact. u. Par.*, 2 janv. 1890.)

2. Voir Flugge et Klein.

manière uniforme, ou bien il paraît granuleux. Il croît dans le bouillon alcalin en donnant un dépôt sur la paroi des vases de culture, et présente souvent dans ce milieu des formes renflées en poire ou en massue. Une température de 38°, en milieu humide, le fait périr en moins de 10 minutes.

Toutes ces propriétés sont communes au bacille pseudo-diphtérique et au bacille diphtérique vrai. Comme différence entre eux, on peut noter que le pseudo-diphtérique est souvent plus court dans les colonies sur sérum ; que ses cultures dans le bouillon sont plus abondantes ; qu'elles se continuent à une température de 20°-22°, à laquelle le bacille vrai croît très lentement <sup>1</sup>. Quand on fait par comparaison des cultures des deux bacilles dans du bouillon, elles deviennent acides, puis alcalines ; les changements de réaction se produisent beaucoup plus vite dans celles du bacille pseudo-diphtérique. Comme le diphtérique vrai, le pseudo-diphtérique pousse dans le vide, mais moins abondamment, ce qui est l'inverse de ce qui se passe dans les cultures à l'air.

*Fréquence du bacille pseudo-diphtérique dans la bouche des personnes saines et atteintes d'angines non diphtériques.* — Chez beaucoup de personnes qui n'avaient pas la diphtérie, nous avons recherché le bacille pseudo-diphtérique, en semant sur sérum un peu de mucus pris sur les amygdales et le pharynx. Nous avons d'abord examiné ainsi un certain nombre de petits malades de l'hôpital des Enfants, entrés dans les salles pour des affections très diverses, mais autres que la diphtérie ; ils étaient tout à fait comparables aux enfants du pavillon de la diphtérie au point de vue de l'âge et des conditions de l'existence. Sur quarante-cinq d'entre eux, quinze avaient dans la bouche le bacille pseudo-diphtérique. Cette proportion élevée tient peut-être à ce que nos expériences ont été faites sur des enfants parisiens, ayant séjourné plus ou moins longtemps à l'hôpital. Or, la diphtérie est commune

1. Nous avons vu quelquefois des bacilles non virulents donner, dans les premiers jours, une culture aussi pauvre que le bacille virulent. L'abondance de la culture ne suffit pas à caractériser le bacille non virulent. Cependant, quand on abandonne les cultures à la température de la chambre, il se forme à la longue un dépôt plus volumineux dans les cultures non virulentes, qui donnent aussi des voiles à la surface. Le bacille pseudo-diphtérique croît plus abondamment sur la gélose nutritive que le bacille diphtérique, surtout à une température peu élevée. Mais l'aspect des colonies sur ce milieu nous a paru aussi peu caractéristique pour l'un des bacilles que pour l'autre.



à Paris, l'hôpital des Enfants en renferme toujours de nombreux cas, et si le bacille pseudo-diphtérique est le bacille diphtérique atténué, il n'est pas étonnant de le rencontrer fréquemment dans les conditions que nous venons de dire. Les résultats seraient-ils les mêmes sur des enfants de même âge, mais vivant loin d'une grande ville? Grâce à l'obligeance de M. le Recteur de l'Académie de Caen <sup>1</sup>, nous avons pu ensemençer le mucus pris dans la bouche de 59 enfants de l'école d'un village très salubre, situé sur les bords de la mer, et où, depuis longtemps, aucun cas de diphtérie n'avait été relevé. Vingt-six fois le bacille pseudo-diphtérique était présent dans la bouche de ces petits écoliers. La proportion est plus forte encore qu'à Paris. Le même bacille a été trouvé une fois chez l'une des dix personnes qui composent le personnel habituel du pavillon de la diphtérie. Ces chiffres n'ont évidemment aucune valeur absolue, ils seraient peut-être très différents si les ensemençements avaient été multipliés ou faits à d'autres moments. Ils montrent néanmoins que le bacille dit pseudo-diphtérique est très répandu, et qu'on peut le regarder comme un hôte fréquent de la bouche.

Puisqu'il en est ainsi, il ne faut pas s'étonner de le rencontrer chez les malades atteints d'angines. Six enfants, malades d'angines simples, nous l'ont donné deux fois. Sept rubéoleux l'ont fourni cinq fois; il est vrai qu'au moment où nous faisons ces recherches, la diphtérie était fréquente dans le service de la rougeole.

Mais il est remarquable que dans tous les cas qui nous ont donné le bacille pseudo-diphtérique, qu'il s'agisse de personnes saines ou de sujets atteints d'angines simples, ce bacille était très rare. Sur le sérum il n'y avait ordinairement que de une à quatre colonies; et souvent, de plusieurs tubes ensemençés avec le même mucus, un seul contenait une colonie caractéristique. Il était tout à fait exceptionnel d'en obtenir un plus grand nombre. C'est seulement dans les cas de rougeole que les colonies étaient plus nombreuses, au point d'éveiller l'idée d'une complication diphtérique, mais l'inoculation montrait qu'elles étaient inoffensives. Au point de vue du diagnostic de la diphtérie, on

1. Nous adressons ici tous nos remerciements à M. le Recteur Zévort pour l'appui qu'il nous a donné.

peut donc affirmer que la présence du bacille pseudo-diphtérique dans la bouche ne crée pas une difficulté. Il n'y a, en effet, aucune comparaison à établir entre les tubesensemencés avec les fausses membranes diphtériques, et ceux semés avec l'enduit des angines ordinaires. Les premiers portent un grand nombre de colonies spécifiques. Les seconds n'en contiennent pas, ou seulement quelques-unes, lorsque le bacille pseudo-diphtérique est présent sur la muqueuse. Dans tous les cas où il y a un nombre notable de colonies, on pourra conclure à la diphtérie avant même de connaître le résultat de l'inoculation aux animaux ; les erreurs seront bien rares.

Quant à l'angine rubéolique, elle paraît constituer, dans la bouche, un terrain particulièrement favorable à la culture du bacille pseudo-diphtérique.

L'inoculation de ces bacilles pseudo-diphtériques n'a jamais donné la mort aux animaux ; on pouvait toutefois remarquer que les uns causaient aux cobayes des œdèmes notables, que d'autres en produisaient de très petits, que d'autres enfin ne faisaient aucune lésion locale. Les œdèmes les plus marqués ont été causés par les bacilles extraits des cas de rougeole.

Tous les faits que nous avons rapportés nous donnent-ils quelques éclaircissements sur la question qui nous occupe ? Peut-on en conclure qu'il y a une relation entre les deux bacilles ? D'une part, la présence du bacille pseudo-diphtérique dans la bouche de personnes saines et de celles qui ont des angines manifestement non diphtériques, semble éloigner toute idée de parenté entre eux. D'autre part, si on considère que le bacille non virulent est très rare dans les diphtéries mortelles, qu'il est plus abondant dans les diphtéries bénignes, qu'il devient plus commun à mesure que les diphtéries sévères marchent vers la guérison, et qu'enfin il y en a bien plus chez ceux qui viennent d'avoir la diphtérie que chez les personnes saines, on acceptera difficilement l'idée que ces deux microbes sont absolument étrangers l'un à l'autre. Les différences morphologiques que l'on a relevées entre eux sont si faibles qu'elles ne prouvent rien. Ces organismes ne peuvent être distingués que par leur action sur les animaux, mais la différence de virulence ne comporte nullement la différence d'origine. Au point de vue de la forme, de l'aspect des cultures, le bacille diphtérique et le bacille pseudo-

diphthérique diffèrent moins entre eux que le charbon virulent et le charbon très atténué, qui viennent cependant d'une même souche. D'ailleurs, la distinction nette que nous faisons entre les bacilles virulents et les non virulents est arbitraire : elle repose sur la réceptivité des cobayes. Si nous inoculions des animaux plus sensibles, il est des bacilles pseudo-diphthériques que nous rangerions parmi les virulents, et si au contraire nous remplaçons, dans nos essais, les cobayes par les lapins, il est des bacilles diphthériques que nous appellerions pseudo-diphthériques. Dans les expériences, on ne rencontre pas seulement un bacille très virulent et un bacille non virulent : entre ces deux extrêmes il y a des bacilles à tous les degrés de virulence. Parmi ceux qui sont vraiment diphthériques, les uns tuent en 24 heures, d'autres en 60 heures, d'autres en 3 à 4 jours, d'autres après un temps plus long encore ; il ne viendra cependant à l'idée de personne que ces microbes d'activités diverses n'appartiennent pas à la même espèce. Pourquoi alors séparer ceux qui ne diffèrent que par une virulence moindre encore ? Où ferons-nous commencer le pseudo-diphthérique, au bacille qui ne donne plus d'œdème chez le cobaye, ou à celui qui en produit un peu ? La nature nous présente tous les intermédiaires entre le bacille diphthérique vrai et le pseudo-diphthérique ; les relations qui existent entre eux sont très probablement du même ordre que celles qui existent entre la bactériémie virulente et la bactériémie très atténuée. Nous disons : très probablement, car pour fournir une démonstration sans réplique, il faudrait produire artificiellement le bacille pseudo-diphthérique en partant du bacille diphthérique vrai, ou inversement le diphthérique vrai en partant du pseudo-diphthérique. Si on réalisait ces deux preuves, on aurait montré jusqu'à l'évidence que les deux microbes sont une même espèce.

## VI

### DE L'ATTÉNUATION DU VIRUS DIPHTHÉRIQUE.

La plupart des auteurs qui ont écrit sur le bacille de la diphtérie parlent des cultures atténuées de ce microbe ; ils prétendent que les cultures anciennes ont perdu leur virulence.



Quant à nous, nous pensons que cette atténuation du bacille de la diphtérie n'est pas si facile à obtenir<sup>1</sup>.

Quand on inocule à des cobayes des cultures de diphtérie, conservées pendant longtemps à la température de la chambre ou à l'étuve, ils ne succombent pas, bien que les cultures employées se soient montrées très actives quand elles étaient plus jeunes. Les bacilles qu'elles contiennent ne sont cependant pas morts, il suffit de les porter dans du bouillon pour qu'ils pullulent à nouveau. Il semble donc, qu'avec le temps, leur virulence a diminué. Cette conclusion est erronée, elle dépasse l'expérience, qui prouve simplement qu'une vieille culture inoculée directement n'a pas tué les cobayes, ce qui n'autorise pas à dire qu'elle est atténuée. En effet, une culture est atténuée quand, ensemencée, elle donne une culture nouvelle atténuée comme elle. Le caractère de l'atténuation véritable, c'est d'être héréditaire. Il suffit de semer à nouveau les vieilles cultures de diphtérie pour voir qu'elles ne sont pas dans ce cas. La culture renouvelée tue les cobayes, et nous voyons sortir de notre culture âgée, inactive, un bacille mortel. Si les bacilles anciens ne tuent pas, c'est qu'ils ne germent pas sous la peau des cobayes; il suffit de les rajeunir pour leur rendre la virulence.

Avant donc de nous prononcer sur la virulence de nos cultures, nous aurons soin de les ensemencer et d'inoculer les cultures-filles après 24 à 30 heures de séjour à l'étuve. En opérant ainsi, nous voyons que le bacille de la diphtérie reste virulent pendant un temps très long. Des cultures dans le bouillon, restées quatre mois à la température ordinaire, et d'autres restées trois mois à 36°, fournissaient des cultures-filles très meurtrières. On n'observe pas non plus d'atténuation sensible en cultivant le bacille à des températures plus élevées. Au-dessus de 40°, le microbe diphtérique ne croît plus dans le bouillon; à 39°,5 il pousse avec un retard. Une culture, faite à cette température limite pendant vingt-cinq jours, ne faisait pas périr les cobayes auxquels on l'inoculait directement, mais les cultures récentes issues de ce flacon les tuaient rapidement. Si on expose à 45° une culture jeune, et que chaque jour on en prélève une partie

1. M. Flugge dit que le bacille de la diphtérie s'atténue après plusieurs générations sur gélose glycinée.

pour l'ensemencer dans du bouillon mis à 33°, on voit qu'après quatre jours à 45°, les bacilles ont péri; cependant la culture obtenue le troisième jour est encore active.

Dans le cours de nos expériences, nous avons rencontré deux fois des cultures atténuées spontanément.

Au mois d'avril 1888, nous avons isolé, de fausses membranes diphtériques, une colonie qui nous fournit un bacille très actif, tuant rapidement les cobayes et les lapins. Pendant les années 1888 et 1889, un grand nombre de cultures de ce bacille ont été faites, sans que l'on ait constaté leur affaiblissement. Une d'entre elles, restée longtemps à l'étuve, puis plusieurs mois à la température de la chambre, fut semée à nouveau et donna des cultures inoffensives pour les lapins, même quand on en injectait 2<sup>cc</sup> dans les veines. Ces cultures tuaient encore les cobayes.

Le 14 mai 1889, on a extrait d'une fausse membrane un bacille qui faisait périr les cobayes en moins de 48 heures. Une culture, en bouillon, de ce bacille, gardée à 30°, du 27 mai au 31 août, fournit des cultures-filles qui laissaient vivre une partie des cobayes inoculés sous la peau, et ne tuaient les autres qu'après un temps assez long.

Comme dans ces deux exemples la virulence des bacilles était bien déterminée à l'origine, il est certain qu'il y a eu atténuation dans les cultures.

Nous avons essayé de réaliser cette atténuation d'une manière régulière, en exagérant l'action de l'air sur les cultures. Pour cela, nous avons cultivé le bacille diphtérique très virulent, dans du bouillon en faible épaisseur, placé dans un flacon de M. Fernbach. Par les tubulures latérales passait un courant d'air aspiré par une trompe à eau. Le flacon était placé dans une étuve à 35°, et, pour éviter une évaporation trop rapide, l'air barbottait, avant son entrée, dans un flacon laveur mis à la même température. Le bacille diphtérique, ensemencé ainsi dans du bouillon aéré, croît plus abondamment que dans les conditions ordinaires. Au bout de 36 heures, le liquide, primitivement alcalin, est déjà acide et, dès le quatrième jour, il est de nouveau alcalin. Ces changements de réaction ne s'accomplissent qu'en une quinzaine de jours dans un flacon témoin laissé à côté du flacon aéré. Tous les deux jours, on fait une prise de semence dans le flacon aéré et le flacon témoin, et on les introduit dans du bouillon. Après 24 heures, on inocule ces cultures-filles par

comparaison à des cobayes. Dans des expériences ainsi conduites, on n'a pas noté d'atténuation sensible, même après un mois.

Pour joindre l'action de la chaleur à celle de l'air, nous avons répété la même expérience à la température de 39°,5. La culture est alors moins rapide et moins abondante, l'alcalinité n'apparaît pas aussi vite. Quand le développement est manifeste, on peut faire monter l'étuve à 40° pour faciliter l'action de l'oxygène. Les cultures, issues dans les premiers jours du flacon ainsi chauffé et aéré, sont très virulentes; bien loin de noter une diminution dans l'activité du bacille, il semble que celle-ci soit exagérée. Mais il arrive un moment où on obtient des cultures-filles qui ne tuent plus les cobayes.

Le 27 octobre 1889, on sépare des colonies diphtériques pures d'une fausse membrane. Une d'elles sert à préparer une culture dans le bouillon de veau; inoculée à trois cobayes, elle les tue en moins de 48 heures. Avec cette culture virulente, on sème un flacon de M. Fernbach et on le met dans un courant d'air à 39°,5. Un flacon témoin est laissé à la même température. Le développement se fait dans les deux cultures : celle qui est aérée est plus abondante. Le 9 novembre, on fait une culture-fille avec chacun des flacons, et le lendemain on les inocule chacune à deux cobayes. Ceux qui ont reçu la culture issue du flacon témoin meurent en 24 heures; ceux qui ont été inoculés avec la culture issue du flacon aéré ont un petit œdème qui disparaît bientôt.

Avec une colonie isolée d'une fausse membrane, venant d'un enfant mort de diphtérie, on enseme un tube de bouillon. Cette culture est inoculée à 4 cobayes qui meurent en moins de 30 heures. Le 13 novembre 1889, avec cette culture dont la virulence est connue, on enseme un flacon à courant d'air et un flacon témoin, mis tous deux à 39°,5. Jusqu'au 27 novembre, toutes les cultures issues du flacon aéré sont mortelles pour les cobayes. Celle du 29 novembre ne l'est plus; inoculée à plusieurs cobayes et à diverses reprises, elle ne les rend nullement malades; elle est tout à fait atténuée. Le flacon témoin fournit, au contraire, des cultures très actives. Le 30 novembre, un nouvel ensemenement du flacon aéré reste stérile.

Voici un autre exemple où la marche de l'atténuation a été beaucoup plus régulière. Le 23 avril on enseme à 39°,5, dans un courant d'air, un bacille diphtérique virulent. Jusqu'au 2 mai, toutes les cultures issues de ce flacon se sont montrées très actives; elles tuaient les cobayes en moins de 30 heures, souvent en 24 heures. La culture faite le 2 mai faisait périr les cobayes en 4 jours; celle du 4 mai en 3 jours; celle du 6 mai en 30 heures, celle du 8 en 10 jours; celle du 10 juillet ne tue pas, mais donne aux



cobayes un œdème marqué; celles du 12 et du 13 mai ne produisent qu'un très petit œdème; celle du 16 est tout à fait inoffensive.

Les bacilles diphtériques finissent donc par périr quand ils sont cultivés à la température de  $39^{\circ},5$  à  $40^{\circ}$  dans un courant d'air; avant leur mort, ils perdent leur virulence. Cette atténuation est tantôt rapide, tantôt lente; parfois, elle paraît se faire brusquement, quelque temps à peine avant la mort des bacilles. On n'obtient pas des virulences intermédiaires aussi régulièrement que dans l'atténuation du charbon. Tous les bacilles d'une culture ne s'atténuent pas en même temps, de sorte que, lorsqu'on ensemence, comme nous l'avons fait, des quantités notables dans du bouillon, on sème à la fois des bacilles virulents et des bacilles qui ne le sont plus. Tous croissent; mais, à l'inoculation, les virulents manifestent seuls leur activité. Ce n'est que tout à fait à la fin, quand il n'y a plus du tout de bacilles virulents, que la culture paraît atténuée, bien qu'en réalité elle renfermât des bacilles atténués depuis plusieurs jours déjà. On peut montrer qu'il en est ainsi en séparant sur sérum un grand nombre de colonies, et en essayant la virulence de chacune d'elles; on en trouve de non virulentes à côté de très meurtrières, et le nombre des premières va en augmentant à mesure que le temps s'écoule.

N'existe-t-il pas une certaine analogie entre nos cultures aérées à  $39^{\circ},5$  et celles qui se font dans la gorge des malades? Dans les deux cas, les bacilles virulents disparaissent peu à peu et les bacilles atténués se substituent à eux.

Les bacilles des cultures à l'air et à  $39^{\circ},5$  ont des formes renflées; ils se colorent mal, surtout avec le bleu de Loeffler.

Un moyen plus rapide d'atténuation consiste dans l'action combinée de la dessiccation et de l'action de l'air. Nous avons dit que le virus diphtérique desséché se conserve pendant très longtemps, et qu'une fausse membrane sèche donne après cinq mois un grand nombre de colonies si on l'ensemence sur sérum. Mais ces colonies ne sont plus virulentes.

Une fausse membrane est retirée de la trachée d'un enfant au moment de la trachéotomie, étalée sur un linge propre, séchée à l'air, puis conservée dans un tiroir. Cette pseudo-membrane fraîche contient beaucoup de bacilles spécifiques faciles à voir au microscope; ensemencée sur sérum, elle donne

de belles colonies ; cinq d'entre elles, inoculées à des cobayes, les font périr en moins de 48 heures. Un mois après, avec un fragment de la même fausse membrane, on ensemeince des tubes de sérum ; les colonies sont très nombreuses : on en sépare cinq qui donnent cinq cultures mortelles pour les cobayes. Un nouvel ensemeinement fait à la fin du cinquième mois de dessiccation fournit des colonies moins nombreuses ; avec dix d'entre elles on prépare dix cultures pures qui, inoculées à dix cobayes, se montrent inoffensives. Les unes ne causent pas du tout d'œdème, les autres en donnent un peu, une seule produit un œdème notable.

Une seconde fausse membrane est mise à dessécher dans les mêmes conditions que la première, après que l'on s'est assuré, par l'inoculation de cinq colonies, qu'elle renferme des bacilles très actifs. Quand trois mois sont écoulés, on fait un ensemeinement, et avec 10 colonies pures on prépare 10 cultures en bouillon, que l'on inocule à dix cobayes ; tous succombent en moins de trente-six heures. Les bacilles séchés sont donc encore virulents ; après trois mois leur atténuation n'est pas sensible.

Les bacilles diphtériques desséchés périssent en quelques jours à la température de 45°. Dans une expérience, ils ne pouvaient plus le bouillon dès le quatrième jour ; le troisième jour ils avaient donné une culture, mais celle-ci, inoculée à un cobaye, produisit un œdème volumineux et n'amena la mort qu'après quatre jours.

Il est donc possible, en partant d'un bacille diphtérique virulent, d'obtenir artificiellement un bacille dépourvu de virulence, tout à fait semblable aux bacilles atténués que l'on retire des angines diphtériques bénignes ou encore de la bouche de certaines personnes en bonne santé. Ce microbe artificiellement préparé se confond avec le pseudo-diphtérique ; comme lui, il pousse plus abondamment et à une température plus basse, il rend le bouillon plus rapidement alcalin, il croît très peu dans le vide.

## VII

### VIRUS DIPHTÉRIQUE ATTÉNUÉ ET TOXINES.

Ce qui caractérise surtout le bacille diphtérique virulent <sup>1</sup>, c'est la propriété d'élaborer une substance toxique spéciale. Nous

1. Dans nos mémoires de 1888 et 1889, nous avons eu soin d'indiquer que les cultures riches en toxines étaient faites avec des bacilles très virulents.

avons fait connaître comment sa culture dans le bouillon se charge peu à peu de cette toxine, au point que, débarrassée de tout microbe vivant, elle produit chez les animaux tous les symptômes et toutes les lésions de l'empoisonnement diphtérique<sup>1</sup>. Nous avons déterminé les principales propriétés de ce poison et signalé son extraordinaire activité<sup>2</sup>. Les bacilles atténués et le pseudo-diphtérique ont-ils aussi la faculté de faire cette toxine ? Avant d'aborder cette question, nous allons indiquer un procédé qui permet d'activer la production du poison dans les cultures de diphtérie.

Dans du bouillon de veau légèrement alcalin, un bacille très virulent ne donne pas de toxine, en quantité notable, avant une vingtaine de jours. La production du poison varie avec le bacille employé, l'épaisseur du liquide de culture, la forme du vase. Elle est très activée dans les cultures à 35°, traversées par un courant d'air, d'après le dispositif que nous avons indiqué dans le chapitre précédent.

Le 13 novembre 1889, on ensemence 3 ballons de M. Fernbach, contenant du bouillon, avec un bacille diphtérique virulent ; on les met à 35° et on les fait traverser par un courant continu d'air ; à côté on place 3 ballons ordinaires semés avec le même bacille et qui serviront de témoins. Le 18 novembre, les cultures aérées sont plus abondantes, elles sont alcalines, tandis que les cultures ordinaires sont à peine acides. On filtre sur porcelaine une culture à l'air et une culture témoin. Les liquides filtrés sont injectés à 4 cobayes. Les cobayes *a* et *a'* reçoivent sous la peau 4<sup>cc</sup> et 1<sup>cc</sup> du liquide de la culture aérée ; les cobayes *b* et *b'* reçoivent 4<sup>cc</sup> et 1<sup>cc</sup> du liquide de la culture ordinaire. Le 20 novembre, *b* et *b'* n'ont rien du tout ; *a* et *a'* ont un fort œdème, *a* est très malade. 22 novembre, le cobaye *a* est trouvé mort ; *a'* se rétablit, il se forme une escarre au point de l'injection.

Le 22 novembre, on filtre sur porcelaine une culture aérée et une culture témoin. Les cobayes *c* et *c'* reçoivent sous la peau l'un 4<sup>cc</sup>, l'autre 1<sup>cc</sup> du liquide aéré ; les cobayes *d* et *d'* reçoivent l'un 4<sup>cc</sup>, l'autre 1<sup>cc</sup> du liquide témoin. — 24 novembre. Les cobayes *d* et *d'* n'ont rien au point d'injection ; *c* et *c'* ont un gros œdème. Les jours suivants, *c* et *c'* deviennent de plus en plus malades et meurent l'un le 3 décembre, l'autre le 15 décembre.

Le 30 novembre, on filtre sur porcelaine une culture aérée et une culture témoin. Un lapin reçoit dans les veines 10<sup>cc</sup> du liquide aéré, il meurt le 1<sup>er</sup> décembre. Un cobaye qui a reçu 4<sup>cc</sup> sous la peau meurt le même jour. Le lapin et le cobaye qui ont reçu les mêmes doses de la culture témoin ont été un peu malades, mais ils étaient encore vivants un mois après.

1. Voyez ces *Annales*, décembre 1888.

2. Voyez ces *Annales*, juin 1889.



Le large accès de l'air est donc favorable à la production du poison diphtérique. Cette condition est réalisée dans les fausses membranes qui tapissent la muqueuse, ce qui nous explique la rapidité de l'empoisonnement dans certaines angines diphtériques, où les bacilles sont très virulents.

Si nous faisons ainsi par comparaison des cultures dans courant d'air avec un bacille très virulent et le même bacille après qu'il a été atténué artificiellement, nous verrons que les premières deviennent riches en poison, tandis que les secondes n'en contiennent point. Le bacille pseudo-diphtérique retiré de la bouche d'une personne saine, se comporte absolument comme le bacille diphtérique très atténué.

Le 10 décembre 1889, on dispose dans l'étuve à 35°, 3 flacons Fernbach, contenant la même quantité de bouillon et traversés par un courant d'air. Le premier estensemencé avec un bacille diphtérique très virulent; le second avec un bacille de la même origine que le précédent, mais qui a été atténué par culture aérée à 40°, il ne donne qu'un très léger œdème aux cobayes; le troisième flacon est semé avec un bacille pseudo-diphtérique retiré de la bouche d'un enfant sain. Après 15 jours, les trois cultures sont très abondantes, surtout celles des bacilles non virulents, qui sont plus alcalines que la culture virulente. On les filtre sur porcelaine, et on injecte les liquides limpides dans les veines de six lapins. Les lapins A et A' reçoivent 10<sup>cc</sup> du liquide de la culture virulente; B et B', 20<sup>cc</sup> du liquide de la culture du bacille atténué; et C et C' 20<sup>cc</sup> du liquide de la culture du bacille pseudo-diphtérique. Vingt-quatre heures après, les lapins A et A' sont déjà morts; B, B' et C, C' paraissent un peu malades, mais ils se rétablissent les jours suivants. Au bout de six mois, les lapins qui ont survécu maigrissent, B et B' meurent paralysés l'un après deux mois, l'autre après deux mois et demi. Les lapins C, C' sont restés maigres pendant plusieurs mois; l'un est mort, l'autre est vivant.

Nous pourrions citer beaucoup d'expériences semblables, faites avec des bacilles de divers degrés de virulence, atténués artificiellement ou retirés d'angines plus ou moins graves. Toutes montrent que la propriété de faire le poison diphtérique appartient au bacille virulent, et que cette propriété toxigène va en s'affaiblissant à mesure que la virulence des bacilles diminue. Elle est au minimum dans les bacilles très atténués et dans le bacille pseudo-diphtérique. Cependant, les animaux qui reçoivent de grandes quantités de la culture filtrée de ces bacilles sans virulence, ou de celle du bacille pseudo-diph-

térique maigrissent et quelques-uns finissent par succomber. Ils se comportent comme ceux qui, dans nos expériences de 1888, avaient reçu des liquides toxiques chauffés à 70°-100°; ou encore comme les animaux qui sont inoculés avec des bacilles vivants peu actifs. Ces faits établissent une ressemblance de plus entre le bacille diphtérique atténué artificiellement et le bacille pseudo-diphtérique<sup>1</sup>.

## VIII

### DU RETOUR A LA VIRULENCE DU BACILLE DIPHTÉRIQUE ATTÉNUÉ.

Le retour à la virulence du bacille diphtérique atténué est intéressant pour l'étiologie de la diphtérie. Nous avons vu, en effet, qu'après cette maladie on trouve souvent, dans la bouche et pendant un certain temps, des bacilles non virulents. Dans certaines circonstances, ceux-ci peuvent-ils reprendre leur virulence?

Le procédé qui consiste à inoculer d'abord avec un virus affaibli des animaux très sensibles, puis successivement des animaux de plus en plus résistants, afin de lui rendre son activité, ne nous a pas réussi avec le microbe atténué de la diphtérie. Les bacilles très atténués n'ont pas d'action sur les très jeunes cobayes ni sur les jeunes lapins, et le premier passage par un animal n'a pas pu être réalisé. Nous ne fatiguerons pas le lecteur avec le récit des essais infructueux que nous avons faits pour rendre virulents des bacilles tout à fait inactifs et le bacille pseudo-diphtérique. Pour la diphtérie comme pour le charbon, nous ne savons pas jusqu'ici renforcer la virulence quand elle est descendue trop bas. Nos tentatives ont été plus heureuses en prenant comme point de départ un bacille qui avait encore une légère action sur le cobaye. Le renforcement a été obtenu, en associant ce virus non mortel à celui de l'érysipèle, et en inoculant le mélange à des cobayes. Cette expérience ne réussit pas

1. Dans une communication à la Société de biologie (16 nov. 1889), nous avons dit que les bacilles atténués ne donnaient pas de toxines dans les cultures. Le même fait a été signalé par MM. Brieger et Fraenkel (*l. c.*). Voir aussi le travail de M. Gamaleia dans ces *Annales*, 1889, p. 609.

toujours, elle nécessite l'emploi d'un microbe de l'érysipèle extrêmement actif<sup>1</sup>.

D'une diphtérie bénigne, on a isolé des colonies qui, inoculées au cobaye, lui donnaient un petit œdème persistant deux ou trois jours, sans jamais amener la mort.

On prépare, dans du bouillon, une culture fraîche de ce bacille et une culture récente d'érysipèle très virulent. Le streptocoque employé a été renforcé par plusieurs passages à travers des lapins; ses cultures, âgées de 24 heures, inoculées dans les veines de ces animaux, à la dose de 1<sup>cc</sup>, les tuent en 12 à 15 heures; sous la peau elles les font périr en 24-30 heures.

Le 15 décembre 1889, on inocule à deux cobayes, sous la peau, 1/2<sup>cc</sup> de culture pure d'érysipèle; à deux autres cobayes, 1/2<sup>cc</sup> de la culture du bacille diphtérique atténué; et à deux autres 1<sup>cc</sup> du mélange à parties égales des cultures d'érysipèle et de diphtérie non virulente. Les jours suivants, les cobayes qui ont reçu l'érysipèle ont du gonflement au point d'inoculation, puis un petit abcès; ceux qui ont reçu la diphtérie atténuée ont de l'œdème et ensuite une très petite escarre. — Le 17 décembre, un des cobayes inoculés avec le mélange meurt dans la matinée; l'autre succombe dans l'après-midi. Au point d'inoculation, il y a une petite fausse membrane, et de l'œdème qui contient des bacilles diphtériques et des cocci de l'érysipèle. Les vaisseaux sont dilatés, la congestion des capsules surrénales est intense, et il y a un épanchement abondant dans les deux plèvres. Ces deux cobayes ont donc les lésions diphtériques ordinaires. Des tubes de sérum sont ensemencés avec l'œdème; dès le lendemain ils montrent des colonies diphtériques bien développées, tandis que le streptocoque de l'érysipèle a poussé très maigrement. La séparation est donc facile. La culture pure de diphtérie issue d'une de ces colonies est inoculée directement à deux cobayes qui succombent en moins de 36 heures.

Avec le bacille inoffensif de cette expérience et avec le bacille renforcé, on a fait des cultures à 35° dans courant d'air. Après 15 jours de séjour à l'étuve, ces cultures ont été filtrées sur porcelaine et injectées dans les veines de 4 lapins. Deux ont reçu chacun 10<sup>cc</sup> du liquide de la culture du bacille renforcé; deux autres 20<sup>cc</sup> du liquide de la culture du bacille primitif non virulent. Les deux premiers étaient morts après 30 heures. Les deux autres furent un peu malades, puis guérirent; mais au bout de deux mois ils commencèrent à maigrir et finirent par succomber après avoir été paralysés.

Le bacille non virulent élabore de très petites quantités de poison dans les cultures. Le même bacille renforcé en prépare au contraire de grandes quantités. Le retour à la virulence est marqué par le retour de la propriété toxigène.

1. M. Babtchinski a proposé de combattre la diphtérie par l'inoculation du streptocoque de l'érysipèle. Nous croyons que c'est là une pratique inefficace et même dangereuse. Nous avons eu l'occasion d'observer plusieurs cas de diphtérie compliqués d'érysipèle. La mort est survenue dans quatre cas sur cinq.



Séparés, le coccus de l'érysipèle et le microbe diphtérique atténué étaient incapables de donner la mort aux cobayes; associés, ils les tuent rapidement avec les lésions de la diphtérie. Après ce passage par le cobaye, le bacille affaibli a recouvré sa virulence, et celle-ci s'est maintenue dans les cultures successives.

Si nous avons réalisé cette expérience en partant du bacille pseudo-diphtérique, il serait évident que celui-ci est une forme atténuée du bacille de la diphtérie. Nous n'y sommes pas parvenus, mais il est vrai que nous n'avons pas réussi davantage à renforcer le bacille diphtérique vrai, artificiellement très atténué. Quand on l'a amené à ce point d'atténuation qu'il ne produit presque plus de réaction locale au point d'inoculation, il ne nous a pas été possible de le renforcer, et par conséquent de le distinguer du pseudo-diphtérique.

D'autres microbes, sans doute, pourraient comme celui de l'érysipèle servir à exalter la virulence du bacille diphtérique affaibli. Les organismes microscopiques de la bouche et ceux des fausses membranes devraient être étudiés à ce point de vue <sup>1</sup>. La scarlatine, la rougeole sont souvent compliquées de diphtérie; les angines, qui marquent le début de ces fièvres éruptives, préparent la muqueuse pour le développement du bacille diphtérique. On peut aussi penser que, dans certains cas, les diphtéries qui compliquent la rougeole ou la scarlatine, ont peut-être pour origine les bacilles sans virulence si souvent présents dans la bouche. Sous l'influence de la maladie éruptive, ou de quelque association microbienne inconnue, ils prendraient de la virulence et deviendraient virus diphtérique actif <sup>2</sup>. C'est là une hypothèse; mais comme nous avons prouvé que le bacille virulent de la

1. On trouve toujours dans les fausses membranes un streptocope très voisin de celui de l'érysipèle; ce microbe favorise-t-il l'action du bacille diphtérique? Dans son mémoire sur la diphtérie, M. Babes suppose qu'il en est peut-être ainsi.

2. L'enfant L... entre à l'hôpital avec le croup le 30 avril: elle est opérée; la canule est enlevée le 5 mai. Le 10 mai, la plaie trachéale est presque fermée, l'enfant doit sortir le lendemain. Le 11 mai, tirage violent, il faut à grand-peine dilater le pertuis de la plaie trachéale, on retire une fausse membrane volumineuse. L'enfant a de la fièvre et dans la journée elle a une éruption de rougeole. (Le 4 mai, un enfant atteint d'angine douteuse, qui avait été admis dans la salle, présentait, deux jours après son entrée, une éruption de rougeole: le lit de cet enfant était en face de celui de l'enfant L.) Sous l'influence de la rougeole, la diphtérie, qui paraissait guérie, s'est manifestée de nouveau et a tué l'enfant le 13 mai. Le 10 mai, du mucus buccal ensemencé avait donné quelques colonies spécifiques; une inoculée n'était pas virulente. Les colonies isolées de la fausse membrane rendue le 11 mai étaient très actives.

diphtérie peut être atténué au point de ne pouvoir être distingué du pseudo-diphtérique, il n'est pas déraisonnable de supposer que ce bacille pseudo-diphtérique joue un rôle dans l'étiologie de la diphtérie. Il est encore bien difficile de préciser ce rôle. La plupart des cas de diphtérie sont assurément dus à la contagion directe, soit au moyen du virus frais, soit au moyen du virus desséché; mais à côté de ces diphtéries venant directement d'un bacille virulent, il en existe probablement qui ont pour origine ce bacille pseudo-diphtérique, hôte de beaucoup de bouches. Devenu virulent grâce à des conditions que nous ne pouvons que soupçonner, il peut être le point de départ de contagions nouvelles <sup>1</sup>. L'étude des diphtéries rubéoliques et

1. O... Raymond, 7 ans, entre le 21 mai à l'hôpital pour un mal de gorge avec une plaque blanche sur l'amygdale droite; il est envoyé au pavillon de la diphtérie.

La fausse membrane est très petite, peu épaisse et peu adhérente. On sème un tube de sérum avec la spatule passée sur la fausse membrane. — 22 mai. Quelques colonies à peine développées; on laisse le tube à l'étuve. Il n'y a plus qu'un point blanc sur l'amygdale droite. On fait un nouvel ensemencement. — 23 mai. Il n'y a pas de colonies spécifiques dans le tube du 21. Celui du 22 porte très peu de petites colonies; on le laisse à l'étuve. — 24 mai. L'enfant n'a plus rien à la gorge. La prise du 22 n'a pas donné de colonies diphtériques. On conclut que l'enfant n'a pas la diphtérie. On fait un nouvel ensemencement. — 26 mai. La prise du 24 mai donne 4 colonies d'aspect spécifique, elle sont formées de bacilles semblables à celui de la diphtérie. Avec deux colonies on prépare des cultures pures inoculées à 4 cobayes qui ont un très léger œdème les jours suivants. On fait un nouvel ensemencement. — 29 mai. L'ensemencement du 26 a donné quelques colonies, on en sépare 4 qui sont inoculées à des cobayes. Ces cobayes ont tous de l'œdème les jours suivants. L'enfant a quelques points blancs sur les amygdales des deux côtés. — 30 mai. Les fausses membranes ont grandi, l'enfant a de la diphtérie. On fait un ensemencement. — 31 mai. Nombreuses colonies sur le tube d'hier; on en isole 3 que l'on inocule à 3 cobayes qui périssent en 4 jours; elles sont donc virulentes. Dans les jours qui ont suivi, l'enfant a fait une angine diphtérique bien caractérisée. Il est resté à l'hôpital jusqu'au 10 juin et en est sorti guéri.

Voici donc un enfant qui entre à la diphtérie avec une angine non diphtérique. Pendant son séjour dans la salle, on voit apparaître dans sa bouche des bacilles diphtériques non virulents. Peu nombreux d'abord, ceux-ci augmentent en même temps qu'ils deviennent plus actifs, et qu'une diphtérie véritable se développe chez l'enfant. On pourra dire que celle-ci est due, non pas à l'augmentation de virulence des bacilles d'abord inactifs, mais à l'introduction dans la bouche de bacilles virulents. Quoi qu'il en soit, ce cas nous a paru assez intéressant pour être rapporté.

Nous compléterons l'histoire de O... en disant que nous avons atténué le bacille virulent extrait de sa bouche pendant la période d'état de la maladie. Puis nous avons semé à 33°, dans courant d'air, le bacille virulent, le bacille atténué préparé artificiellement, et le bacille non virulent des premiers jours. Après 13 jours, on a filtré les cultures sur porcelaine. Le liquide de la culture virulente, injecté dans les veines des lapins à la dose de 10<sup>cc</sup>, les a tués; celui de la culture atténuée artificiellement et celui du bacille naturellement non virulent n'ont pas fait périr les lapins qui en avaient reçu 20<sup>cc</sup> dans les veines.

scarlatineuses nous dira sans doute ce qu'il faut penser de cette hypothèse.

L'idée qu'un microbe saprophyte peut devenir pathogène a été introduite, avec autorité, dans la science par les expériences du laboratoire de M. Pasteur sur l'atténuation des virus et leur retour à la virulence. Elle a été exposée dans une note de MM. Pasteur, Chamberland et Roux <sup>1</sup> en 1881; depuis elle a été acceptée par beaucoup de savants, et nous pensons que c'est une idée féconde qui rend compte de bien des faits inexplicables sans elle.

Les conclusions pratiques que nous tirerons de ce long mémoire sont les suivantes :

La meilleure façon d'arrêter la propagation de la diphtérie, c'est de reconnaître la maladie le plus tôt possible; par conséquent, le diagnostic précis doit être fait par l'examen microscopique des fausses membranes et l'ensemencement sur sérum.

Le virus diphtérique actif peut persister longtemps dans la bouche après que la maladie est guérie; par conséquent, les diphtériques ne doivent être rendus à la vie ordinaire que lorsqu'ils ne sont plus porteurs du bacille.

Le virus diphtérique se conserve pendant très longtemps à l'état sec; par conséquent, il faut passer à l'étuve les linges et tous les objets qui ont été en contact avec les diphtériques.

Le virus atténué de la diphtérie est très répandu, il peut reprendre sa virulence; par conséquent, il faut, dès le début des angines simples et des angines de la rougeole et de la scarlatine, pratiquer le lavage antiseptique de la gorge.

1. Comptes rendus de l'Ac. des sciences.

---



# DÉVELOPPEMENT DES PARASITES MALARIQUES DANS LES LEUCOCYTES DES OISEAUX (Leucocytozoaires)

PAR M. LE PROFESSEUR V. DANILEWSKY, DE CHARCOFF.

(PLANCHE VII, A.)

---

Les recherches microscopiques de ces dernières années nous ont fait connaître beaucoup d'exemples de parasites intracellulaires qui envahissent les globules rouges (*Drepanidium*, *Hemogregarinæ*, *Polimitus*, etc.).

Il a été démontré par mes observations <sup>1</sup> que, chez les oiseaux, ces parasites cytozoaires pénètrent dans les générateurs des hématies, — leucocytes, lymphocytes, érythroblastes et hémato-blastes, — sous forme de germes minuscules, et s'y développent parallèlement à la métamorphose progressive de l'hématie elle-même.

Une partie de ces germes succombe évidemment dans la lutte contre l'activité phagocytaire des cellules, tandis que l'autre conserve ses aptitudes vitales et, par suite, son pouvoir de développement ultérieur. Il est très probable que la même lutte a lieu pendant l'infection malarique de l'homme, surtout dans la rate et dans la moelle des os. Nous avons le droit de considérer ces organes comme des filtres poreux, dans lesquels le sang laisse en passant les corps étrangers et les parasites, qui sont activement englobés par les éléments protoplasmiques. La structure de ces organes et leurs rapports mécaniques vis-à-vis du sang expliquent et confirment cette manière de voir. Des observations directes ont démontré que la moelle des os est généralement beaucoup plus riche que le sang en formes parasitaires variées

1. *La Parasitologie comparée du sang*, I et II, 1889.

(divers stades de métamorphose). En outre, on peut souvent constater une absence complète de parasites dans le sang, tandis que l'on en trouve une quantité assez grande dans la moelle des os (*l. c.*). Ceci est vrai non seulement pour les parasites intracellulaires, mais aussi pour les parasites libres, comme le *Trypanosoma sanguinis* (chez les oiseaux). Il est évident, par suite, que c'est surtout la moelle des os qu'il faut étudier dans les recherches sur les parasites des hématies. En l'étudiant chez les oiseaux au printemps et en été, j'y ai trouvé une forme parasitaire que j'avais, il est vrai, entrevue antérieurement dans le sang, mais qui m'a paru problématique jusqu'à ce que j'ai fait une étude approfondie de la moelle des os.

Ce parasite a l'aspect d'un grand corps incolore et fusiforme, dont la partie centrale est granuleuse. Le noyau allongé est disposé excentriquement (Pl. VII, A, fig. 3). Quelquefois la masse granuleuse a une forme sphérique; une mince capsule incolore et légèrement plissée l'enveloppe distinctement<sup>1</sup>.

L'aspect et la dimension du noyau, le manque complet de granulations mélaniques et d'hémoglobine, les caractères de la capsule homogène et lamelliforme, et la dimension générale du corpuscule, tout cela prouve que le cytozoaire est renfermé non dans une hématie, mais dans un leucocyte en état de dégénérescence. Mes dernières recherches, notamment sur les hiboux, viennent confirmer cette manière de voir : j'ai trouvé dans la moelle des os du hibou toute une série d'états transitoires qui ont éclairé le mode de développement de ce parasite. J'ai pu constater en même temps que ce *leucocytozoaire* n'est qu'un stade intracellulaire du développement du *Polimitus avium*, décrit par moi antérieurement; j'ai souvent observé au printemps l'excapsulation du *Polimitus* et les mouvements énergiques de ses flagelles (fig. 11).

Ce *Polimitus* diffère de celui dont le développement se passe à l'intérieur de l'hématie, par sa dimension plus grande et le manque complet de granulations de mélanine. Pourtant je ne me crois pas autorisé à affirmer que tous les *leucocytozoaires* ne sont que des jeunes stades de développement d'un seul et même *Polimitus*. Ainsi, il y a chez les oiseaux des hématozoaires qui

1. *L. c.*, II, page 23.

se transforment sous les yeux de l'observateur en une forme mobile de grégarine ; tel est le *Pseudo-vermiculus* (l. c., pages 16-18), qui est probablement très voisin du *Laverania* malarique de l'homme. Des faits analogues doivent exister pour les leucocytozoaires.

Il nous reste encore à justifier le nom de *leucocytozoaire*, qui paraît être en contradiction avec la théorie phagocytaire de Metchnikoff.

Je dois d'abord faire remarquer que le nombre des leucocytozoaires est incomparablement moindre que celui des hématozoaires. On en voit un pour plusieurs centaines de ces derniers dans le sang. D'autre part il y a beaucoup plus de leucocytes normaux que de ceux qui contiennent des parasites.

Ainsi le nombre absolu comme le nombre relatif de leucocytozoaires est insignifiant en comparaison de celui des hématozoaires. Cela prouve que le parasitisme dans l'intérieur des leucocytes trouve beaucoup plus d'obstacles que dans l'intérieur des globules rouges. La théorie de Metchnikoff explique les motifs de cette résistance. Il ne faut pas oublier, en outre, la métamorphose progressive des cellules génératrices des hématies, qui a lieu même après l'englobement du germe parasitique.

Il est très probable que la vive croissance du parasite est la cause principale de l'arrêt du développement du globule sanguin qui subit alors une dégénérescence hyaline<sup>1</sup>.

Les changements physico-chimiques du globule sanguin qui ont alors lieu doivent sans doute affaiblir et enfin complètement arrêter ses fonctions phagocytaires, facilitant ainsi le développement intracellulaire du parasite.

En partant de ce point de vue, on comprend la cause de la propagation du parasitisme dans les hématies, dont la substance (90 0/0 d'hémoglobine) est évidemment complètement dépourvue de propriétés phagocytaires.

Ainsi la croissance et le développement du parasite dans le globule sanguin est facile à concevoir, si, au moment de l'envahissement le protoplasme de celui-ci est en voie de métamorphose (érythro-hématoblastes).

Mais comment les germes des leucocytozoaires conservent-ils

1. Cette dégénérescence des globules sanguins, notamment chez les lézards, a été décrite par moi dans les *Archives slaves de Biologie*, 1881.



leur aptitude vitale dans les stades primitifs des leucocytes ? On peut faire plusieurs suppositions à ce sujet : le leucocyte peut n'avoir que de faibles propriétés phagocytaires : le moment de l'injection peut correspondre à ce commencement de la métamorphose progressive, moment favorable ; par suite, l'infection peut déjà se faire pour l'hématoblaste, et n'être plus possible pour le leucocyte, et ainsi de suite. Je ne veux pas m'arrêter sur ces hypothèses.

Il suffit d'ajouter que la dimension du leucocytozoaire et de la cytocapsule qui le renferme avec son propre noyau, indique que cette dernière est une hématoblaste et non un leucocyte.

Quant à l'aspect extérieur du leucocytozoaire, il est très variable dans la moelle des os. Ces variations sont surtout en rapport avec les saisons. C'est aux mois d'avril et mai qu'il convient le mieux d'observer les jeunes stades de développement. Ils se présentent alors sous forme de petits corps ovales et sphériques, enveloppés par une couche presque homogène de protoplasme leucocytaire encore bien visible, mais ayant déjà perdu la faculté de mouvements amiboïdes.

La cytocapsule contient toujours un grand noyau très distinct, à contours bien précis. La forme du noyau est presque toujours ovale allongée, et non sphérique ; si le parasite a déjà acquis une dimension notable, il produit une pression mécanique sur le noyau, qui prend alors une forme en biscuit, et s'aplatit encore plus.

Très souvent la capsule, enveloppant étroitement le parasite, s'étire des deux points opposés en forme de lambeaux triangulaires, plissés et membraneux, qui donnent à l'ensemble l'aspect fusiforme. (Fig. 3, 4, 8, 9.)

Quant au parasite même, il est de couleur mate, grise, à fines granulations, et la présence du noyau n'a pas encore pu y être constatée.

J'ai déjà signalé plus haut que j'avais plusieurs fois réussi à voir la transformation de ce corps sphérique et immobile en *Polimitus* à longs flagelles très mobiles<sup>1</sup>.

J'ai fait remarquer que ce *Polimitus* des leucocytozoaires est généralement beaucoup plus grand que celui des héma-

1. Je reviendrai sur ce point plus longuement dans un travail prochain.

tozoaires. Comme il est à croire, d'après la quantité de substance, que la croissance des parasites s'opère dans les deux cas aux dépens du plasma du sang, et non exclusivement aux dépens des corpuscules sanguins, nous devons admettre que la couche périphérique de l'hématie chez les oiseaux offre une certaine résistance, qui entrave l'accroissement de parasite <sup>1</sup>.

D'ailleurs on a pu observer, quoique bien plus rarement, des Polimitus de grande dimension à l'état d'hémacytozoaires (*l. c.*, fig. 7 et 11).

Je dois encore ajouter que les leucocytes des oiseaux contenant des hématozoaires ne renferment souvent pas de parasites.

Je n'ai trouvé jusqu'ici de leucocytozoaires que chez les hiboux et encore pas toujours. A l'heure qu'il est, j'ai dans mon laboratoire 5 hiboux infectés; mais un seul en contient.

Les conditions individuelles jouent, à ce qu'il paraît, certain rôle; peut-être est-ce la plus ou moins grande énergie des phagocytes qui détermine ces conditions.

1. Cela est encore appuyé par les observations des mouvement des flagelles dans la capsule des hématies.

---

## EXPLICATION DES DESSINS

### PLANCHE VII, A.

*Diverses formes de Leucocytozoaires* : 10 et 6, jeunes stades. Dans la figure 9, le noyau du leucocyte (cytocapsule) est vu de face et d'en haut. — Figure 11, Polimitus provenant du leucocytozoaire avec les flagelles déployées.

La figure 18, dans le 1<sup>er</sup> tome de ma *Parasitologie comparée du sang*, est nommée par erreur hématozoaire. C'est un Polimitus provenant d'un Leucocytozoaire. (Comparer la figure 11 de ce mémoire.)

---

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES PHAGOCYTES

PAR M. LE PROFESSEUR DANILEWSKY, A CHARCOFF

(PLANCHE VII, B)

---

Dans mes études sur les hématozoaires de divers animaux<sup>1</sup>, je me suis souvent trouvé en présence de la question du phagocytisme à un point de vue encore peu abordé, celui notamment des rapports des phagocytes avec les microbes non bactériens en général (Sporozoaires, Monadines), et les parasites intracellulaires en particulier.

D'après mes recherches, c'est surtout la moelle des os et la rate qui servent de foyers au développement des parasites; ce sont donc des organes dont les conditions de fonctionnement et de structure sont très favorables à l'étude des relations intimes réciproques des éléments morphologiques du sang et des microbes parasitaires.

D'autre part, des observations directes de la rate de certains oiseaux atteints par une malaria intense, m'ont démontré la présence d'énormes phagocytes macrophages, contenant des hématies avec des parasites à divers degrés de désintégration<sup>2</sup>.

Cela m'a conduit à une série de recherches, que je crois devoir publier dans cette courte note. Elles concernent la destruction des hémogrégarines de la tortue et des microbes malariques des oiseaux (hémocytozoaires) par les phagocytes.

Les premières observations furent faites en été, sur des grenouilles auxquelles j'avais transfusé par la veine abdominale antérieure du sang de tortue contenant des hémogrégarines, et

1. *Parasitologie comparée du sang*, I et II, chez Rickert à Pétersbourg.

2. *L. c.*, page 24 (voir plus bas).



dilué par une petite quantité de solution indifférente de sel marin (0,6 0/0).

Déjà, après 30 min. ou 1 heure, on retrouve dans le sang, pris à une coupure au doigt, des hématies de tortue, englobées dans de grands leucocytes de la grenouille. L'hémoglobine de ces hématies disparaît bientôt, ce qui est dû à l'action qu'exerce sur elle le plasma sanguin de la grenouille. Le protoplasme du leucocyte est nettement séparé du parasite de l'hématie, la grégarine, par une substance hyaline, claire, qui est le stroma de l'hématie décolorée. Dans du sang pris après quelques heures, on voit nettement que le contour de l'hématie englobée, d'abord si distinct, le devient de moins en moins dans la direction de l'extérieur à l'intérieur vers le parasite; le protoplasme du phagocyte, en détruisant le stroma de l'hématie, se rapproche de plus en plus du parasite qui jusqu'ici conservait encore ses caractères optiques.

La destruction du parasite est, évidemment, beaucoup plus difficile que celle de l'hématie, qui ne demande que 2-3 jours. Cela s'explique par la présence autour du parasite d'une capsule cuticulaire. Les changements visibles du parasite se résument en ceci : ses granulations deviennent moins distinctes; il devient lui-même plus clair et plus transparent; on aperçoit des plis sur la cuticule. A la fin, il n'en reste qu'un sac cuticulaire clair, plissé et vide, dont le contenu a déjà été résorbé, c'est-à-dire digéré par le phagocyte, dans lequel on peut encore longtemps observer le noyau de l'hématie, en forme de corps brillant, rond ou annulaire réfractant fortement la lumière. Ce dernier résiste évidemment grâce à la présence de nucléine.

Si, au contraire, l'hématie englobée contient un jeune stade du parasite, celui-ci est détruit beaucoup plus vite, à cause de l'absence de la cuticule. Le meilleur moyen d'observer tout le processus du phagocytisme est celui que j'ai décrit<sup>1</sup>; notamment c'est à l'aide de cultures, faites en aspirant le sang infecté, avec une petite quantité d'air, dans un tube capillaire en verre aplati et assez mince pour que l'on puisse y appliquer librement des systèmes à immersion. Il est facile d'observer ainsi le même objet pendant deux ou trois jours.

1. Archives slaves de biologie, 1886.

On obtient les mêmes résultats en mélangeant les sangs de la tortue et de la grenouille, avec ou sans addition de sel marin à 0,6 0/0. La meilleure méthode d'observation est pourtant de faire le mélange en injectant, *in situ*, du sang de tortue dans le cœur de la grenouille, avec ligature ultérieure des vaisseaux. J'ai appliqué aussi la méthode des gouttes suspendues dans des chambres humides. Il est très essentiel d'opérer à de hautes températures pour accélérer et renforcer les phénomènes phagocytaires (36-39°). Après avoir fait une série de ces observations, on voit que c'est l'hématie qui est détruite la première par le phagocyte de la grenouille; c'est seulement plus tard que le parasite disparaît, en commençant par son entoplasme (sarco-cyte), tandis que l'ectoplasme, c'est-à-dire la cuticule est digérée bien moins facilement.

On peut faire des observations non moins intéressantes sur la destruction phagocytaire des hématozoaires malariques chez les oiseaux, quand on mélange leur sang avec celui de la grenouille. Dans le travail ci-dessus cité, j'ai démontré la proche parenté entre ces parasites des oiseaux et les cyto-parasites malariques de l'homme; d'autre part, certaines données de pathologie comparée appuient cette parenté du côté pathogénétique<sup>1</sup>, de sorte que nous avons le droit de regarder ces parasites comme de vrais organismes malariques des oiseaux. L'absence chez eux du stade amiboïde mobile et de la segmentation, qui ont été observés dans le sang malarique de l'homme, ne peut servir d'objection sérieuse à ce rapprochement, étant facilement expliquée par les conditions patho-physiologiques particulières à l'organisme des oiseaux; je reviendrai avec plus de détails sur cette question dans un travail prochain.

L'immense importance du phagocytisme dans l'infection malarique, a été pleinement constatée par Metchnikoff et surtout Golgi (1888). Les observations qui suivent ne sont pas dénuées d'intérêt sous ce rapport.

Le sang de la grenouille est mélangé avec du sang de hibou, contenant une grande quantité d'hématies infectées et des granulations de mélanine. On maintient le mélange à 15-18° C,

1. Voir les cas d'infection malarique prononcée chez les oiseaux, *l. c.*, I.

Après 16 à 24 heures, beaucoup de grands leucocytes (amibocytes) de la grenouille, ont déjà englobé des hématies de l'oiseau au nombre de 1, 2 et même 3 et 4 chacun. La limite entre le protoplasme granuleux du phagocyte et celui de l'hématie colorée et englobée est très accentuée au début; ni la forme, ni la dimension, ni les caractères optiques de l'hématie et de son parasite ne sont changés; dans quelques hémacytes, on remarque seulement un rétrécissement et une augmentation de densité autour du noyau du zooïde coloré, ce qui, du reste, est dû à l'action du sérum du sang de la grenouille, et non à celle du protoplasme du phagocyte.

Les changements ultérieurs se résument en ce qui suit: les contours des hématies englobées s'effacent peu à peu; le protoplasme des deux cellules commence à se mélanger; la coloration d'hémoglobine disparaît. La substance du phagocyte se rapproche de plus en plus du parasite et du noyau des hématies. Dans les 12-24 heures qui suivent, suivant la température, l'hématie disparaît, laissant à sa place le noyau et un amas de granulations de mélanine, autour desquelles on remarque le cytozooïde plus compact. Pendant ce temps, on peut observer que le noyau de l'hématie s'écarte du parasite, ce qui prouve clairement la destruction de stroma de l'hématie.

Dans le stade suivant on n'aperçoit plus les contours du parasite; son protoplasme se mélange d'une façon diffuse avec celui du phagocyte, c'est-à-dire est digéré par celui-ci; par suite les granulations de mélanine sont bientôt dispersées dans tout le contenu du phagocyte, grâce aux courants intérieurs du protoplasme. Quant au noyau de l'hématie, on le voit encore distinctement pendant quelques jours à l'intérieur du phagocyte.

J'ai observé des modifications de haut intérêt dans l'aspect extérieur de phago-amibocyte lui-même, dans les diverses phases de la désintégration intracellulaire des hématies englobées du sang étranger. Dans la première phase, quand les hématies englobées ne présentaient que peu de modifications, le protoplasme du phagocyte avait l'aspect mat et granuleux, ses pseudopodes étaient courts et émoussés. Par contre, le lendemain, quand la destruction intracellulaire s'opérait dans toute sa force, on observait nettement une différenciation entre le protoplasme intérieur granuleux du phagocyte, contenant les restes



des hématies désintégrées, et son extérieur hyalin, qui allongeait nombreux appendices longs et branchus; ces derniers étaient mobiles, modifiaient énergiquement leur forme, leur dimension et leur place (voir fig. 7 et 8, Pl. VII, B).

Le jour suivant, les pseudopodes hyalins du phagocyte étaient déjà rentrés et les amibocytes avaient repris leur aspect primitif.

Ces modifications démontrent clairement que nous avons affaire à une vitalité active du protoplasme, et non pas à des phénomènes de mort. D'un autre côté, les observations citées prouvent que les phagocytes peuvent englober et détruire non seulement des microbes morts, mais aussi des êtres vivants et d'une organisation beaucoup plus élevée que celle des bactéries.

J'ai obtenu les mêmes résultats en mélangeant le sang malarique d'un oiseau à celui d'un autre non infecté, et aussi en introduisant le sang du premier dans une veine ligaturée du chien. Après 16 à 24 heures, dans le sang mélangé, pris dans la partie ligaturée de la veine, on trouvait une quantité de grands leucocytes, contenant des hématies d'oiseaux au nombre de 1 à 2, à divers stades de désintégration, et présentant les tableaux ci-dessus décrits. Évidemment la destruction intracellulaire des hématies et cytozoaires englobés s'opérait plus rapidement, grâce à la température plus élevée du chien comparativement à celle de la grenouille.

Les mêmes phénomènes de phagocytisme doivent sans aucun doute se produire chez les oiseaux infectés de cytozoaires. Dans les cas où ils sont faiblement infectés, ces oiseaux ne diffèrent en rien par leur aspect extérieur des oiseaux normaux; mais s'ils sont sérieusement atteints, c'est une anémie prononcée qui se développe, et ensuite une mélanémie malarique complète. C'est chez ces oiseaux (corbeau, geai, hibou) que la rate, la moelle des os et le foie prennent une *coloration brun foncé ou même noire*; l'examen microscopique démontre la présence d'une grande quantité de pigment de mélanine, en forme d'amas de granulations partiellement libres, mais plus souvent englobées dans de grands corps protoplasmiques, provenant de cellules phagocytaires. Il est à croire que les formes libres ne le sont qu'en apparence, soit que la couche mince de protoplasme qui les recouvre soit très mince, soit qu'elle ait été détruite par

un procédé mécanique quelconque. Quant aux formes endoglobulaires, elles sont très différentes : on voit au dedans des phagocytes, deux ou trois fois plus grands que les hématies, pour 1 et 2 hémacytes tout à fait normaux (fig. 1), des fragments encore colorés par l'hémoglobine (fig. 11 et 14); à côté d'eux de petites granulations de mélanine avec le corps du cytozoaire encore distinct; des granulations libres, en amas et en agglomérations de forme irrégulière et angulaire, de très grande dimension (mélanophagocytes, fig. 12 et 13). Celles-là proviennent évidemment de la destruction d'une grande quantité d'hématies à l'intérieur du phagocyte : autant qu'on peut évaluer la quantité de mélanine que contient un phagocyte, c'est à 5 à 10 hématies détruites avec cytozoaires, et quelquefois plus, qu'elle correspond. Ce ne sont pas toutes les granulations qui ont une coloration brun noir; quelques-unes sont brun clair; j'ai trouvé de ces dernières dans la rate d'un geai, qui n'avait pas une mélanose fortement accentuée. Évidemment nous avons affaire à divers stades de métamorphose régressive de l'hémoglobine.

Quant aux phagocytes eux-mêmes, leur dimension dépassait plusieurs fois celle des leucocytes ordinaires; leur couche périphérique était de substance hyaline; la partie intérieure était granuleuse et enveloppait les corps endoglobulaires. La forme du phagocyte était ordinairement arrondie; les pseudopodes manquaient; le noyau était ordinairement recouvert par des granulations de pigments. Les formes les plus diverses et les plus intéressantes se trouvent dans la rate et dans la moelle des os. Il faut se souvenir que les myéloplastes multinucléaires, quoique dépourvus d'enveloppe quelconque, ne contiennent néanmoins aucun parasite ni chez les oiseaux, ni chez les animaux à sang-froid (*l. c.*) Cela peut servir à prouver que l'englobement intracellulaire résulte d'une fonction active du phagocyte lui-même.

En dehors des cas ci-dessus cités de phagocytisme, j'ai encore pu observer des phénomènes semblables dans le sang des oiseaux (hiboux), dilué avec une solution indifférente de sel marin à 0,6 %. Ce sont surtout les leucocytes contenant de grandes granulations à éclat jaunâtre qui fonctionnent comme phagocytes.

Sur des préparations fraîches, ils se meuvent énergiquement

non seulement à une température élevée (38-40°C.), mais aussi à la température ordinaire.

En attaquant un leucocytozoaire, le phagocyte l'enveloppe d'un ou de deux côtés, et se met à ramper à sa surface, passant de place en place. En même temps le noyau du leucocyte, qui avait antérieurement englobé le parasite, est refoulé, et bientôt le leucocytozoaire se trouve complètement enveloppé par une mince couche de protoplasme. De ce moment, les mouvements protoplasmiques du parasite deviennent de plus en plus lents et finissent par s'arrêter complètement.

L'intérêt n'est pas moins grand quand on observe l'attaque d'un *Polimitus* intracellulaire par un phagocyte au moment qui précède son excapsulation et le déroulement de ses flagelles. L'hémacyte infectée est assez vite envahie par le leucocyte, mais en ce même instant commence l'excapsulation du *Polimitus*, le déroulement de ses flagelles et la rupture de l'hémacyte; les flagelles s'étendent et se meuvent énergiquement du côté encore libre, non envahi par le phagocyte; mais son étreinte devient de plus en plus étroite, les flagelles sont pris, ils deviennent immobiles et finissent par disparaître dans la masse protoplasmique. Ayant enveloppé sa proie, le phagocyte ne l'abandonne plus, et sa destruction commence à s'opérer.

On peut quelquefois observer l'englobement d'un *Polimitus* ayant déjà perdu ses flagelles, à l'intérieur duquel se produit un intense mouvement des granulations. Le parasite, enveloppé de toutes parts, résiste encore évidemment pendant quelques minutes au phagocyte, comme en témoigne le mouvement des granulations; mais bientôt le parasite s'affaiblit, les granulations deviennent immobiles. Les contours du parasite et sa réfringence s'atténuent, et sa substance finit par s'assimiler complètement à celle du phagocyte.



## DESCRIPTION DES FIGURES

PL. VII, B. — Fig. 1. Un leucocyte de la grenouille enveloppant une hémogregarine libre, le *Cytidinis Stepanowi*.

Fig. 2. Une phase suivante du même phénomène.

Fig. 3. Un leucocyte de la grenouille s'est emparé, d'un hémocyte d'oiseau contenant un cytozoaire.

Fig. 4. Début de la destruction intracellulaire : la coloration d'hémoglobine (en violet) se concentre autour des noyaux des hémocytes ; les contours des hémocytes sont encore très distincts.

Fig. 5. Un des hémocytes englobés a perdu sa coloration, mais a encore conservé des contours nettement distincts ; un autre (à droite) est déjà en voie de destruction, son stroma est en partie détruit ; il ne reste que le noyau et quelques granulations de mélanine du troisième hémocyte (en bas).

Fig. 6. La substance de l'hémocyte englobé est déjà détruite, assimilée par le phagocyte ; mais le noyau et le cytozoaire sont encore intacts.

Fig. 7. Continuation de la fig. 6 : le noyau du grand phagocyte est encore distinctement visible, mais le parasite est détruit et ses granulations de mélanine sont diffusément dispersées dans le phagocyte.

Fig. 8. L'aspect du phagocyte après sa digestion.

Fig. 9. Un phagocyte de la moelle des os d'un corbeau infecté ; il contient deux hémocytes.

Fig. 10. On voit les restes des hémocytes détruits à l'intérieur du phagocyte, leurs noyaux sont entourés par un anneau clair, représentant ce qui reste du stroma.

Fig. 11. On voit à l'intérieur du phagocyte des fragments d'hémocytes encore colorés et les noyaux et les amas granuleux de pigment foncé.

Fig. 12. 13. Phagocyte de la rate avec une grande quantité de pigment, (Mélanophagocyte, *Golgi*).

Fig. 14. Englobement d'un hémocyte par un phagocyte (fixé par l'acide osmique).

Fig. 15. Phagocyte (leucocyte de la grenouille) contenant les restes de 4 hémocytes d'oiseau ; noyaux entourés par des anneaux de stroma.

Fig. 16. Un leucocyte de grenouille a englobé un hémocyte de tortue avec une hémogregarine ; le zooïde est déjà détruit ; la coloration d'hémoglobine a disparu, mais le stroma, non encore détruit, protège le parasite contre la destruction par le phagocyte.

---

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA PARASITOLOGIE DU SANG

PAR M. LE D<sup>r</sup> GABRITCHEWSKY, DE MOSCOU.

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE M. METCHNIKOFF A L'INSTITUT PASTEUR.

(PLANCHE VIII.)

---

En examinant le sang d'une grenouille infectée par le *Drepanidium ranarum*, parasite qu'on y rencontre très souvent, M. Metchnikoff a découvert un nouveau microbe, de forme bactérienne, englobé dans les corpuscules rouges du sang, et a eu la bienveillante attention de me le recommander pour une étude plus approfondie. Peu de temps après, j'ai eu la chance de retrouver le même microbe dans plusieurs autres grenouilles que j'avais en observation, et je me suis mis à suivre le développement du parasite autant qu'il m'était possible dans les conditions dans lesquelles je me trouvais alors. Malheureusement je n'ai pu consacrer à cette étude que fort peu de temps, étant occupé en même temps par mes expériences sur les propriétés chimio-tactiques des leucocytes; mais comme jusqu'ici on n'a encore décrit nulle part de cas semblables à ceux que j'ai observés, je me suis décidé à publier le peu de données que j'ai acquises dans ces recherches.

J'ai eu en tout six grenouilles (*Rana esculenta*) infectées par le parasite dont il est question; cinq d'entre elles se distinguaient par une teinte jaune pâle de la peau, mais ne présentaient aucune autre particularité anormale; la sixième, la plus grosse, avait même la couleur parfaitement normale.

Voici l'aspect que présentait le parasite sur des préparations

colorées du sang. Dans l'intérieur d'une hématie infectée, on voyait une petite boule protoplasmique transparente, nettement limitée au milieu du corps de l'hématie, et contenant dans son intérieur une petite colonie de bacilles, colorés en bleu par le réactif. Dans les cas où l'hémoglobine de l'hématie restait intacte et communiquait à celle-ci une teinte jaunâtre, la petite boule protoplasmique se dessinait d'une manière excessivement nette sous forme d'un corpuscule parfaitement incolore, ne renfermant donc pas de traces d'hémoglobine, et il n'y avait aucun doute que ce corpuscule ne fût un être complètement étranger à l'hématie, une espèce d'amibe, ou de larve amibiforme envahie elle-même par un microbe bactérien.

En observant quotidiennement le sang de la même grenouille, nous avons pu établir pour le microbe une série de stades de développement dont voici les traits principaux. La bactérie renfermée dans l'intérieur du corpuscule amibiforme se met à croître et atteint bientôt une longueur surpassant le diamètre du corpuscule. Alors on voit la bactérie se recourber en arc, comme si elle avait rencontré une surface ou une capsule qu'elle ne parvenait pas à percer. Bientôt après, cet état de tension se résout par une division de la bactérie en deux ou en plusieurs parties courtes qui s'arrangent dans l'intérieur du corpuscule amiboïde sous forme d'un petit amas de bâtonnets. Ceux-ci continuant toujours le même processus d'accroissement et de multiplication, le petit corpuscule se trouve bientôt complètement envahi et remplacé par la colonie de bactéries. Alors on voit dans l'intérieur de l'hématie, à côté de son noyau cellulaire, un petit amas de bâtonnets, nettement limité, à contours ronds ou fusiformes, (Fig. 9-13) et occupant parfois tout l'espace entre le noyau et la surface externe de l'hématie. Les dimensions qu'il atteint dans ce cas sont à peu près celles du noyau de l'hématie, c'est-à-dire de 6 à 10  $\mu$  de diamètre (Fig. 13); le noyau occupe toutefois sa position habituelle et n'est pas déplacé par le peloton de bactéries. En écrasant une hématie ainsi infectée, on en fait facilement sortir l'amas de bactéries, et alors on s'assure que celles-ci sont enfermées dans une capsule fine et transparente qui les tient réunies, et se dessine très distinctement par un double contour à la périphérie du petit peloton de microbes.

Dans des cas rares cependant, il nous est arrivé d'observer que



l'accroissement des bactéries se faisait en dehors des limites du petit corpuscule amibiforme, et alors celui-ci paraissait comme enfilé sur un long bâtonnet mince, qui entraît par ses extrémités dans la substance même de l'hématie, et atteignait parfois la longueur de 8  $\mu$  environ.

Comme autre déviation du type que nous avons décrit plus haut, nous avons à citer des cas où le corpuscule amiboïde, au lieu d'être rempli de petits bâtonnets relativement courts et épais, contenait un certain nombre de filaments très minces, rangés à sa périphérie, et qui laissaient distinguer, à travers leurs interstices, des granulations tantôt plus claires, tantôt plus foncées, de la substance du corpuscule (Fig. 14-17). Ces granulations rappelaient par leur aspect les noyaux des *Drepanidium* que l'on voyait dans le même sang, mais nous n'avons pu saisir d'autres traits de ressemblance entre ces deux organismes. D'un autre côté, dans un certain nombre de cas, nous avons vu un petit peloton de bactéries et un *Drepanidium* associés ensemble l'un à côté de l'autre, dans une même hématie, et il était curieux de voir que celle-ci, malgré ce double envahissement par un parasite animal et végétal, ne présentait aucun signe extérieur d'un état maladif quelconque. En moyenne, sur 50 globules rouges renfermant des *Drepanidium*, nous en avons compté 20 infectés par nos bactéries et 2 contenant les deux parasites ensemble.

Ni dans les leucocytes, ni dans le sérum du sang, il n'y avait de ces bactéries que nous voyions renfermées dans les hématies, et pour avoir ce microbe à l'état de liberté, il fallait écraser ou déchirer une hématie, et en faire sortir le corpuscule amibiforme ou son enveloppe bourrée de bactéries. Celles-ci, débarrassées de leurs capsules, se montraient dépourvues de mouvement propre, en opposition avec les *Drepanidium*, qui à l'état de liberté, manifestaient, au contraire, des mouvements des plus énergiques, en se contournant incessamment en anneau, et en se redressant de suite, pour s'en aller de leur mouvement rotatoire et balancé. En renfermant du sang dans des tubes capillaires ou entre la lame et la lamelle fermées à la paraffine, on pouvait observer l'activité phagocytaire des leucocytes vis-à-vis des *Drepanidium* libres, et il était curieux de voir les corpuscules blancs conserver leurs mouvements propres pendant des heures entières, et ne pas cesser d'attaquer le petit parasite qu'ils

englobaient et emportaient avec eux en continuant leur reptation amiboïde (Fig. 26-27). Il nous est arrivé d'observer des leucocytes renfermant jusqu'à quatre *Drepanidium* à la fois (Fig. 24), et il suffisait d'écraser un tel leucocyte et d'en faire sortir les parasites pour voir ceux-ci reprendre immédiatement leurs mouvements habituels et s'en aller promptement comme si de rien n'était.

Après quinze jours d'examen quotidien, nous nous sommes assurés que la grenouille dans laquelle nous observions ces phénomènes, ne contenait pas d'autres parasites bactériens que ceux que nous venons de décrire. Alors on l'a sacrifiée et on a tâché de transporter ces parasites sur d'autres individus. Pour cela quatre grenouilles, (dont le sang, préalablement examiné, a été trouvé complètement libre de bactéries et de *Drepanidium*,) ont été inoculées avec la rate, le foie, les reins et la moelle des os de la grenouille sacrifiée. Une semaine après j'ai trouvé, dans le sang de la première de ces grenouilles, celle qui a été infectée par la rate, une certaine quantité de *Drepanidium* libres et de bactéries du genre de celles qui sont représentées sur la figure 14 de la planche VIII; mais après trois jours les *Drepanidium* ont disparu, tandis que les bactéries, au contraire, sont restées et se sont richement développées dans l'intérieur des hématies. Nous croyons donc avoir artificiellement transporté et inoculé le parasite bactérien d'une grenouille à une autre. 22 jours après l'inoculation, cette grenouille a été trouvée morte, et l'examen détaillé du sang et des organes nous a montré qu'elle ne contenait pas d'autre parasites en dehors des bactéries des hématies. Des trois autres grenouilles inoculées, deux ont été sacrifiées, et dans l'une d'elles nous avons trouvé une infection mixte de bactéries et de *Drepanidium*, tandis que l'autre se trouvait presque exclusivement envahie par ce dernier parasite, qui y était en telle quantité que pour 20 à 25 hématies saines il y en avait une infectée. La quatrième grenouille reste encore vivante, et celle-ci, aussi bien qu'une autre que nous avons trouvée infectée naturellement, montrent dans le sang la présence des deux parasites ensemble.

L'examen du sang et des organes des grenouilles sacrifiées nous a montré que le parasite bactérien se trouve également répandu dans le sang, dans la rate et dans la moelle des os,

tandis que les *Drepanidium* se fixent de préférence dans la rate de l'animal. Notons encore que dans toutes les grenouilles que nous avons examinées, à côté des bactéries et des *Drepanidium*, il se trouvait encore un petit nombre de Trypanosomes, sur lesquels nous ne nous sommes pas cependant arrêté davantage.

Le sang et la moelle des os de grenouilles infectées, ensemençés dans du bouillon nutritif, sur de la gélatine, sur de la gélose ordinaire et glycinée, et sur du sérum du sang, n'ont pas donné de culture, ni à la température de l'étuve, ni dans la chambre.

Le résultat de nos recherches est donc d'avoir constaté dans le sang de la grenouille une nouvelle forme de parasitisme d'organismes d'origine animale et végétale, dont les uns, les *Drepanidium*, envahissent directement les corpuscules rouges, tandis que les autres, les parasites bactériens, attaquent un être amibiforme, indépendant de l'hématie, et qui pénètre dans celle-ci en y trouvant une demeure et une nourriture appropriées à son existence. Quelle est la nature de cet être? Malheureusement, mes observations ne me donnent pas de réponses positives. L'hypothèse qui me paraît la plus probable, est que le corpuscule amibiforme présente un stade de développement, un état de larve du *Drepanidium*, et alors nous aurions devant nous un exemple curieux d'un double parasitisme, où les organismes végétaux, envahissant le petit être animal, seraient appelés à protéger les corpuscules rouges contre un des ses parasites les plus habituels.

---

### EXPLICATION DES FIGURES.

Pl. VIII. — Fig. 1.-3. Globules rouges avec un bacille renfermé dans un corpuscule protoplasmique à contours arrondis.

Fig. 4. Un bacille avec sa capsule dans l'intérieur d'une hématie.

Fig. 5. Un globule rouge avec un bacille en voie de division.

Fig. 6. Un bacille allongé se préparant à se diviser en deux.

Fig. 7. Deux bacilles renfermés dans un corpuscule protoplasmique.

Fig. 8. Le second bacille est en voie de division.

Fig. 9. Le corps protoplasmique renfermant trois bacilles dont un est segmenté.

Fig. 10. Un corps amiboïde contenant plusieurs bacilles.

Fig. 11. Un autre corps protoplasmique rempli de bacilles.

Fig. 12. Un stade fusiforme rempli de bacilles.

Fig. 13. Le plus grand amas de bacilles qui ait été observé dans une hématie.

Fig. 14-16. Trois stades renfermant des bacilles très minces disposés à la périphérie des corps protoplasmiques.

Fig. 17. Un corps protoplasmique entouré par un petit nombre de bacilles.

Fig. 18. Un Drépanidium recourbé entouré par des bacilles peu nombreux et très minces.

Fig. 19. Un jeune Drépanidium.

Fig. 20-22. Trois stades de développement du Drépanidium ranarum.

Fig. 23. Un Drépanidium libre.

Fig. 24. Trois macrophages de la rate renfermant des Drépanidiums.

Fig. 25. Un parasite échappé d'un phagocyte.

Fig. 26-27. Deux états de mouvement du même phagocyte.

---

#### EXTRAIT D'UNE LETTRE DE M. TCHISTOVITCH A M. DUCLAUX.

... M. Metchnikoff, qui a eu la complaisance de rédiger mon article « Études sur la pneumonie fibrineuse » (V. ces *Annales*, t. IV, p. 285), a partout appelé *Streptococcus lanceolatus* le microbe que j'ai étudié. Sans avoir rien contre cette dénomination en elle-même, je crains cependant qu'elle ne donne lieu à un malentendu, vu la grande quantité de synonymes déjà employés pour désigner les microbes de la pneumonie, et je voudrais insister sur ce que le microbe mentionné dans mon travail est tout à fait analogue, tant par sa morphologie que par les caractères de ses cultures, avec celui que Weichselbaum a appelé *diplococcus pneumoniae*...

---



# SUR UNE PSEUDO-PELADE DE NATURE MICROBIENNE

PAR MM.

L. VAILLARD,

ET

H. VINCENT,

médecin major de 1<sup>re</sup> classe, professeur  
agrégé au Val-de-Grâce.

médecin aide-major, adjoint  
au laboratoire de microbiologie.

---

On observe communément dans le service des maladies cutanées du Val-de-Grâce une affection *alopécique* du cuir chevelu, assez semblable à la teigne pelade pour motiver des méprises fréquentes, et dont l'origine nettement microbienne ressortira sans doute des recherches qui font l'objet du présent travail. Grâce à l'obligeance de MM. les professeurs agrégés Vautrin et Nimier, nous avons pu examiner quarante-quatre militaires atteints de cette maladie, et chez tous, sans exception, nous avons constaté, au niveau de la région alopécisée, la présence d'un microbe bien spécifié, toujours identique à lui-même, facile à démontrer et à cultiver. De plus, en faisant agir les cultures de cet organisme sur la peau de différents animaux, nous avons reproduit, au point inoculé, une affection décalvante semblable à celle que présentaient les sujets en observation.

## I

*Caractères cliniques de la pseudo-pelade.* — La maladie dont il s'agit siège uniquement sur le cuir chevelu, et se présente sous deux formes cliniques, en apparence bien distinctes : 1° *la forme en plaques ou en aires*; 2° *la forme disséminée ou diffuse*. Dans les deux cas l'évolution est identique. L'alopécie se produit habituellement à l'insu du sujet; parfois elle est précédée ou accompagnée de légères démangeaisons. Sa marche est rapide, et en quelques jours toute la surface atteinte se trouve dénudée. Chez les malades examinés à la période initiale de l'affection, la région alopécisée a présenté une teinte légèrement rosée, sans autre modification appréciable.

La pseudo-pelade en *plaques ou en aires* (figure 1) est de beaucoup la plus commune ; elle a été récemment décrite par M. Nimier <sup>1</sup>. « A la période d'état, dit-il, l'affection est caractérisée par des plaques d'alopecie régulièrement arrondies ou un peu ovalaires, mesurant 2, 3, ou 4 centimètres de diamètre, siégeant sans symétrie habituelle sur le sommet de la tête au

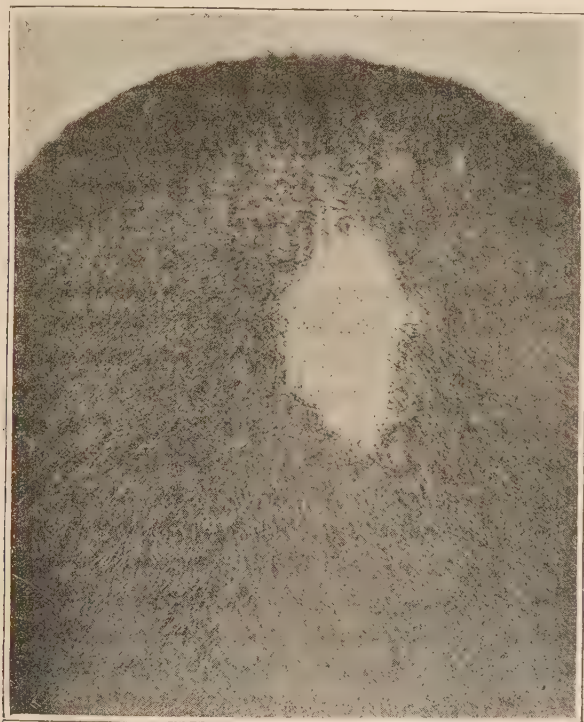


Fig. 1.

nombre de 1 à 2, parfois de 3 à 4. A leur niveau, le cuir chevelu a conservé sa coloration ordinaire, voire un aspect normal, c'est-à-dire que la plaque d'alopecie présente un piqueté noir correspondant à la saillie et à la petite tache de l'orifice des follicules pileux. » Ajoutons que ces follicules paraissent vides. Parfois la peau est blanche, lisse, unie, dépourvue des petits points folliculaires. Dans les deux cas, quelques rares poils sains et

1. De la folliculite microbienne tonsurante du cuir chevelu. — *Gaz. heb.*, 17 mai 1890.

solides restent ordinairement implantés sur la plaque; beaucoup de ceux qui en limitent le pourtour sont, au contraire, fragiles et faciles à arracher.

La pseudo-pelade *diffuse* (fig. 2), moins fréquente que la précédente, est caractérisée par des îlots d'alopecie, en général confluents, irréguliers, disséminés sans ordre sur une surface

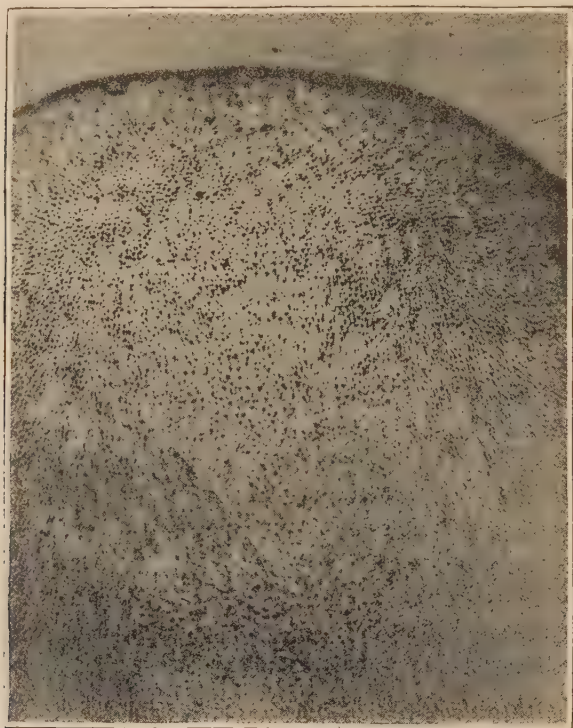


Fig. 2.

plus ou moins étendue du cuir chevelu. Ces îlots, variables de forme et de dimensions, sont rarement distincts et nettement séparés les uns des autres; presque toujours ils tendent à fusionner, se confondent ou se relient entre eux par des traînées glabres. La peau ainsi dénudée présente, d'ailleurs, le même aspect que ci-dessus.

Mais quelle que soit la forme en cause, l'alopecie acquiert d'emblée ses dimensions définitives; elle n'est ni progressive, ni extensive, et ne manifeste aucune propension à s'accroître

excentriquement. Du premier jet elle paraît frapper toute la région qui doit être atteinte.

Pour compléter cette brève description clinique, nous signalerons un aspect un peu particulier qu'a revêtu parfois, mais rarement (9 fois sur 44), la peau de la région alopeciée. Au lieu d'être uniformément blanche, lisse et unie, elle présentait à sa surface ou à ses confins des petites saillies rouges ou des pustulettes minuscules, indices d'une phlegmasie accidentelle surajoutée à la maladie primitive.

La terminaison de la pseudo-pelade est ordinairement favorable. Après 2, 3 ou 4 mois, la guérison peut être complète. La repousse des cheveux offre comme particularité de fournir d'emblée, dans la plupart des cas, des cheveux normaux, et non des pousses successives de poils follets comme dans la vraie pelade (Nimier).

Il ne sera pas inutile d'ajouter que la maladie ainsi caractérisée paraît transmissible d'un sujet à l'autre, et se montre quelquefois sous forme épidémique dans un régiment <sup>1</sup>.

## II

La nature parasitaire de cette pseudo-pelade est facile à établir, et rien n'est plus aisé que d'obtenir en cultures le microbe qu'il engendre. Les moyens de recherche dans ce but sont :

1° L'examen des cheveux arrachés au pourtour de la plaque alopecique; 2° L'étude microscopique des coupes faites sur un fragment de la peau malade; 3° L'ensemencement du sang obtenu par une scarification légère de cette dernière.

*Examen des cheveux.* — L'examen microscopique des cheveux prélevés au pourtour de la région alopeciée fournit le plus souvent des renseignements positifs. Pour le pratiquer avec avantage, il convient de choisir uniquement les poils fragiles, caducs, cédant sans résistance à une faible traction. Étudiés sans coloration préalable, dans la glycérine, ils paraissent atteints dans leur vitalité, atrophies ou même cadavérisés; leur bulbe est souvent aminci, quelquefois effilé en aiguille. Si on les soumet à l'action des matières colorantes d'aniline, particulièrement suivant le procédé de Gram, on voit à leur périphérie, jamais dans leur épaisseur, des petits cocci isolés, gémés ou groupés en amas.

1. Un des régiments de la garnison de Paris a envoyé à l'hôpital 40 malades atteints de cette affection dans l'espace de quelques mois.



Les cas favorables entre tous sont ceux où le cheveu a entraîné avec lui quelques parcelles de la gaine épithéliale du follicule ; celles-ci apparaissent comme saupoudrées ou recouvertes en différents points de fins microcoques disposés en groupes ou en amas cohérents. Les parasites se rencontrent surtout dans la portion folliculaire du poil, mais ils peuvent aussi, et cela non rarement, être retrouvés sur sa partie extrafolliculaire, à des distances plus ou moins grandes au-dessus du collet ; parfois leur abondance est telle à la surface du cheveu malade qu'ils lui forment comme une gaine presque continue. (Planche IX, fig. 1.)

Ce mode de recherche fournit des résultats si fréquemment positifs qu'il peut être donné comme un élément recommandable de diagnostic ; toutefois, de la non constatation du parasite sur le cheveu, on ne serait pas autorisé à conclure à son absence certaine dans la peau atteinte.

2° *Examen histologique de la peau malade.* — L'étude d'un fragment de peau excisé au niveau de la plaque alopécique fournit des renseignements plus sûrs et plus précis. Les coupes minces, colorées d'abord à l'éosine ou au picro-carmin de Orth, puis par le violet de gentiane, suivant la méthode de Gram, sont très instructives, car elles permettent de vérifier *in situ* la présence constante du microbe pathogène, de déterminer le siège exact de son évolution et la nature des altérations qu'il provoque.

Sur les coupes provenant de plaques alopéciques à peau blanche, lisse et d'aspect normal, les follicules apparaissent presque toujours vides de leur poil ; les uns sont dilatés, élargis, plus ou moins encombrés de lames écailleuses d'aspect corné ; les autres rétrécis et comme affaissés sur eux-mêmes. Quelques follicules cependant sont encore occupés par un vestige de poil mortifié, enchâssé dans des lamelles cornées identiques aux précédentes, et paraissant résulter d'une altération univoque de la gaine épithéliale interne. *Tous contiennent des amas parfois considérables de petits microcoques vivement colorés, de forme et de dimensions semblables.* (Planche IX, fig. 2.)

Que le follicule renferme ou ne renferme plus de rudiment du cheveu, c'est toujours au milieu ou à la surface de ces lamelles d'apparence cornée que végète le microcoque parasite. Sa présence y est constante et on ne le trouve que là ; jamais il ne paraît franchir, ni même entamer la gaine épithéliale externe ;

jamais il n'a été rencontré dans la trame conjonctive du derme ou les diverses glandes de la peau. C'est donc uniquement dans le follicule et dans sa partie la plus immédiatement en contact avec le poil lui-même que siège et évolue le parasite ; c'est là aussi que se limitent les minimales lésions qu'il suscite, c'est-à-dire la transformation lamelleuse, cornée, des éléments de la gaine épithéliale interne. Quant au derme et aux glandes, ils ne diffèrent en rien de ce que l'on observe sur une peau saine.

Il peut en être autrement lorsque la région glabre est rouge, enflammée ou parsemée de pustulettes. Alors la gaine épithéliale interne n'est pas seule intéressée ; la gaine externe est aussi atteinte, écaillée, bouleversée, décollée même par un afflux de leucocytes émigrés, que l'on rencontre également dans le tissu conjonctif avoisinant. En pareille occurrence, il s'agit de faits complexes dans lesquels interviennent plusieurs facteurs, d'une part le parasite de la pseudo-pelade, d'autre part des microbes pyogènes.

3° *Culture du micro-organisme.* Les fragments de peau excisés avec pureté peuvent utilement servir pour obtenir une culture du microcoque que l'examen des coupes fait constater ; il suffit de gratter leur face profonde et d'ensemencer le produit du raclage à la surface de plusieurs tubes de gélose. Le moyen est sûr ; mais l'ablation d'une parcelle de peau, quoique facile et sans inconvénients, ne sera pas toujours possible. D'ailleurs, il est aisé, sans y avoir recours, d'arriver au même but ; il suffit de recueillir un peu de sang au niveau de la région alopecique.

A cet effet la plaque de pseudo-pelade est d'abord lavée légèrement à l'eau savonneuse, puis à l'éther, pour la débarrasser des grosses impuretés et des matières grasses qui peuvent la recouvrir ; elle est ensuite lotionnée avec une solution acide de sublimé au millième, enfin avec de l'alcool absolu. Après avoir asséché la région au moyen de papier buvard stérilisé, on pratique à sa surface quelques scarifications légères, superficielles. Un peu de sang suinte. On le recueille avec une anse de platine, et on l'ensemence aussitôt à la surface de plusieurs tubes de gélose qui sont portés à l'étuve, à la température de 37°.

Déjà, au bout de 24 heures, on voit apparaître des colonies circulaires, d'une blancheur parfaite, saillantes, à surface lisse, brillante et régulière ; vues par transparence elles sont opaques

et d'un blanc grisâtre à leur centre. Dès le premier jour elles présentent la dimension d'une tête d'épingle, puis elles grandissent et atteignent la grosseur d'une lentille qu'elles ne dépassent guère. Les colonies sont formées par un petit coccus dont les grains sphériques, mesurant environ  $1\ \mu$  de diamètre, sont presque toujours accouplés par deux. Cet organisme se colore également bien par toutes les couleurs d'aniline et par la méthode de Gram.

Dans tous les cas, au nombre de 44, examinés jusqu'ici, l'ensemencement du sang recueilli au niveau de la plaque a donné, d'une manière invariable, des colonies plus ou moins abondantes du microbe spécifié. Presque toujours, 35 fois sur 44, elles se développaient seules sur le milieu nutritif ; il s'agissait alors des formes types de la maladie, où la peau dénudée avait conservé son apparence et sa coloration normales. Dans les 9 autres cas, les colonies blanches, caractéristiques, étaient abondantes mais mélangées à quelques rares colonies du *staphyl. pyogenes aureus* (7 fois) ou du streptocoque (2 fois) ; alors la plaque alopeciée présentait soit une légère rougeur, soit les signes d'une inflammation pouvant aller jusqu'à la formation de petites pustules.

De ce fait que les colonies du microcoque caractéristique n'ont jamais manqué dans les 44 cas étudiés, on peut déduire déjà son rôle vraisemblable, sinon certain, dans la pathogénie de la maladie ; l'expérimentation sur les animaux en fournira la preuve.

Ce microcoque se développe bien sur tous les milieux nutritifs, et la culture est surtout rapide et abondante à 37°.

En 24 heures, il trouble le bouillon et forme après deux jours un dépôt blanchâtre.

Il végète dans la gélatine en la liquéfiant. Ensemencé par pigûre, il forme après 2 ou 3 jours un entonnoir avec cupule de dessiccation qui s'agrandit ensuite, et rappelle celui que donne le spirille du choléra sur le même milieu. Vers le 5<sup>e</sup> jour, la liquéfaction atteint les parois du tube, envahissant graduellement toute la hauteur du cylindre de gélatine.

Transporté directement du bouillon ou de la gélatine sur la gélose, il y forme une trainée blanche, épaisse, sans autre caractère spécial ; ensemencé à un état plus grand de dilution, le microcoque se développe en colonies arrondies, d'un blanc vif, à surface lisse et régulière, semblables d'ailleurs à celles que l'on

obtient par l'ensemencement du sang des plaques alopéciques.

La pomme de terre est un terrain de culture moins favorable que les précédents ; le microcoque y prospère lentement en couche grisâtre, toujours peu abondante.

Dans tous les milieux l'organisme dégage une odeur fade.

Enfin il paraît peu exigeant au point de vue de ses besoins en oxygène, car il végète dans le vide, mais d'une façon bien moins parfaite qu'à l'air libre.

4° *Inoculation aux animaux.* — Les cultures de ce microcoque ont été inoculées à différents animaux et par des voies diverses.

Injectées sous la peau de la souris blanche à la dose de 1/4 de centimètre cube (culture récente dans le bouillon), elles déterminent la mort en 48 heures sans lésions apparentes ; le sang, la rate et les autres viscères contiennent en abondance le microbe inoculé.

Chez le cobaye et le lapin, l'injection de 1 centimètre cube de la même culture sous la peau ou dans le sang ne produit aucun effet sensible.

Tout autres sont les résultats lorsque la pénétration du microbe se fait par la surface cutanée. Si, après avoir coupé les poils d'une région quelconque sur le dos d'un cobaye ou d'un lapin, on frictionne modérément et pendant quelques minutes cette partie de la peau avec une culture en bouillon (et il n'est pas nécessaire que l'intégrité de l'épiderme soit altérée par la manœuvre), on détermine toujours en ce point la formation ultérieure d'une plaque alopécique semblable à celles que présentent les sujets atteints de pseudo-pelade.

Cette épreuve a été faite sur 25 lapins, deux cobayes, et toujours elle a donné des résultats positifs, identiques. Dès le 2<sup>e</sup> jour, la région inoculée paraît légèrement rouge sans autre lésion appréciable. Au 8<sup>e</sup> jour, les poils deviennent fragiles, faciles à arracher par la moindre traction ; enfin ils s'éliminent tous ou presque tous simultanément, spontanément, laissant une plaque glabre, d'abord rouge et un peu mamelonnée, puis blanche et lisse. La peau ainsi dénudée reste en l'état pendant quatre semaines et plus. Après ce délai, les poils repoussent progressivement, lentement, avec leurs caractères habituels ; toute trace de tonsure disparaît, et il devient impossible de reconnaître l'emplacement de l'alopecie provoquée.



Si l'on fait agir la culture sur la face velue d'une seule oreille chez le lapin, il se développe au point frictionné la plaque alopécique décrite ; mais, en outre, on ne tarde pas à remarquer que la région homologue de l'oreille opposée, bien qu'elle n'ait été soumise à aucune friction, perd peu à peu ses poils et devient glabre à son tour sur une étendue plus ou moins grande. Il s'agit là d'une transmission par simple contact. Dans une attitude qui lui est naturelle lorsqu'il se tient au repos, le lapin abaisse et accole ses oreilles sur la région cervico-dorsale ; il se fait alors, dans l'expérience citée, une inoculation directe d'un organe à l'autre.

Chez le chien, les frictions pratiquées sur un point quelconque de la peau déterminent des effets identiques à ceux qui sont obtenus chez le lapin et le cobaye, avec cette seule différence que, sur le chien, la chute des poils est peut-être plus lente à s'effectuer et aussi l'alopecie plus durable (deux mois et au delà).

Toutes les tentatives pour reproduire une affection cutanée semblable chez la souris blanche et le rat sont restées stériles.

Les cultures gardent pendant longtemps leur végétabilité et leur activité pathogène. L'une d'elles, rajeunie après cinq mois de conservation à l'air et mise en contact avec la peau d'un lapin, a déterminé une plaque alopecique identique à celles que provoquaient les cultures les plus récentes.

Les frictions répétées avec des cultures d'âges divers, préalablement stérilisées par la chaleur, sont toujours restées sans effet.

Il a été dit que, dans certains cas, chez l'homme, la plaque de pseudo-pelade était rouge, enflammée et même parsemée de fines saillies contenant du pus ; alors les cultures donnaient un mélange en proportions fort inégales du microcoque décrit et du *staphyl. pyogenes aureus* ou encore du *streptococcus*, le premier restant toujours et de beaucoup prédominant. Pour cette forme de la maladie qui s'éloigne cliniquement du type ordinaire, il est facile de démêler la part qui revient à chacun des micro-organismes précédents dans la pathogénie des lésions observées. Le microcoque à colonies blanches suffit à produire la chute des cheveux, comme le prouve son intervention isolée, univoque dans les formes simples, et aussi l'expérimentation chez l'animal. Les microbes phlogogènes et pyogènes, en évoluant sur le même terrain, ajoutent leur action propre, c'est-à-dire la phlegmasie du

derme, qui peut aller jusqu'à la suppuration; de là, l'aspect rouge, mamelonné de la plaque et les petits abcès miliaries.

On peut reproduire expérimentalement chez l'animal cette forme clinique complexe de la maladie. Il suffit d'associer, dans les inoculations, le microcoque de la pseudo-pelade avec le *pyogenes aureus* ou le *streptococcus*. Les frictions ainsi faites provoquent très rapidement une rougeur intense de la peau; la région devient mamelonnée, chaude, douloureuse; elle se hérisse de petites pustules et les poils tombent. Si la friction a été faite sur l'oreille du lapin, l'organe s'œdématie, et sur le derme tuméfié apparaissent des petites saillies qui suppurent et se recouvrent de croûtelles. Les poils tombent rapidement. Les foyers de suppuration s'étendent, gagnent en profondeur, intéressent le cartilage et parviennent même à perforer l'oreille de part en part. Puis, quelle que soit la région inoculée, les phénomènes phlegmasiques s'atténuent et finissent par guérir lentement; mais la peau reste longtemps rouge. Les poils repoussent dans les parties qui ont été le siège des moindres altérations; là où l'inflammation du derme et des follicules pileux a été plus vive et destructrice, la repousse ne se fait plus, et il se produit des cicatrices déprimées qui restent définitivement glabres.

Les frictions, faites avec le *staph. pyogenes aureus* seul, peuvent provoquer une dermite suppurée, identique à la précédente par son évolution et ses résultats ultérieurs.

### III

La pseudo-pelade que nous venons d'étudier semblera peut-être offrir comme un air de parenté avec la maladie décrite par M. Quinquaud sous le nom de *folliculite destructive des régions velues*<sup>1</sup>, et dont il a démontré la nature microbienne. Mais les analogies que l'on pourrait voir entre elles sont effacées par les différences, bien plus nombreuses, qui les séparent.

L'affection étudiée par M. Quinquaud aboutit à l'atrophie de la peau et à l'alopecie définitive. Son caractère clinique fondamental ressort des lésions qui la provoquent : « Ce sont des lésions folliculeuses d'aspect divers : le plus souvent, on voit des

1. Société médicale des Hôpitaux. Séance du 10 août 1888.

points purulents, des sortes d'abcès miliaires, punctiformes, du centre desquels émerge un cheveu ou un poil qui s'arrache avec facilité et qui, presque toujours, tombe spontanément; la répétition de ce même processus épilant par petits îlots produit les plaques d'alopécie pseudo-cicatricielles ». — « Il s'agit donc d'une folliculite épilante, rapide, aiguë. »

« Si on fait l'examen bactériologique, ajoute l'auteur, on trouve le *streptococcus pyogenes*; mais on rencontre un microcoque sous la forme de *monococcus*, de *diplococcus* ou en séries de quatre, de 0,3 à 0,4 $\mu$ , existant dans le follicule pileux, dans le sang de la région enflammée, se développant très bien dans l'eau de levure, donnant un léger louche très net vers le quatrième jour, et qui, inoculé à des rats, à des souris, à des lapins, ne produit pas la mort; mais si l'on fait des frictions avec le liquide de culture sur les régions velues du rat, du lapin et de l'homme, on détermine des lésions des follicules avec la chute des poils. »

Le microcoque isolé par M. Quinquaud serait-il identique à celui qui a été rencontré dans nos faits? L'insuffisance des renseignements fournis par l'auteur sur les caractères de ce microbe ne permettent pas de discuter utilement la question. Nous signalerons toutefois que le coccus de M. Quinquaud est sans effet sur la souris lorsqu'il est inoculé sous la peau et provoque la chute des poils chez le rat lorsqu'il est mis en contact avec les régions velues; au contraire, le microcoque décrit précédemment tue la souris par injection sous-cutanée, mais ne détermine aucune lésion sur la peau du rat.

D'ailleurs, par ses traits essentiels et son évolution clinique, la pseudo-pelade observée au Val-de-Grâce diffère entièrement, du moins dans sa forme la plus habituelle, de la maladie décrite par M. Quinquaud. Les plaques alopéciques à peau blanche, lisse, non cicatricielle, s'établissant rapidement sans présenter à leur pourtour des lésions de folliculite aiguë, phlegmasique, ne répondent en rien aux traits fondamentaux de la *folliculite destructive des régions velues*. Serait-ce que dans nos faits le microcoque décalvant, étant seul en cause, produirait là une forme clinique simple, type, pure de tout mélange, que M. Quinquaud ne paraît pas avoir eu sous les yeux? L'explication serait plausible s'il était démontré que les microcoques isolés à Saint-Louis et au Val-de-Grâce doivent être tenus pour identiques, ce qui n'est

pas. Les modalités plus rares de l'affection, où nous avons vu la peau alopeciée rouge, enflammée, parfois surmontée de pustulètes, rappellent peut-être mieux les descriptions du savant dermatologiste. Nous y avons rencontré, comme lui, des associations microbiennes diverses. Mais là, encore, les différences cliniques ne font pas défaut et, pour les raisons déjà indiquées, il est impossible d'établir l'identité étiologique.

Pour M. Nimier, qui a suivi avec une compétence particulière l'évolution de la maladie confiée à notre examen, il n'existerait aucune similitude entre la folliculite destructive des régions velues et la pseudo-pelade dont il a été ici question; telle est aussi notre manière de voir.

De l'exposé ci-dessus, il ressortira que la pseudo-pelade observée au Val-de-Grâce est bien nettement une maladie parasitaire produite par un microcoque dont les cultures déterminent chez certains animaux (lapin, cobaye, chien) une alopecie strictement semblable à celle que l'on constate chez l'homme. Ce parasite évolue exclusivement dans le follicule pileux et dans sa partie immédiatement en contact avec le cheveu, c'est-à-dire la gaine épithéliale interne. En raison des altérations subies par cette dernière, le cheveu se trouve privé de ses moyens de nutrition, il meurt et tombe. Mais cette lésion du follicule est superficielle, facilement réparable, et lorsque le parasite a cessé d'agir, un nouveau cheveu se forme avec ses caractères normaux. Dans la plupart des cas le microcoque est seul en cause; son rôle se borne alors à déterminer la chute des cheveux sans imprimer de modification appréciable à la peau elle-même, qui reste blanche et lisse. Quelquefois, cependant, à ce microcoque s'associent des microbes phlogogènes ou pyogènes, qui actionnent plus vivement les parties constitutives du cuir chevelu; à la chute des poils s'ajoute une phlegmasie véritable des follicules, des glandes, du derme lui-même; d'où une physionomie différente pour la plaque alopeciée. L'expérimentation sur l'animal réalise à volonté les deux formes cliniques de la maladie.

L'origine parasitaire de la pseudo-pelade explique aisément l'apparition successive de plaques alopeciques multiples sur le cuir chevelu d'un même malade, la transmission d'un sujet à l'autre, et aussi les petites épidémies que l'on observe parfois sur les collectivités. Le transport et la diffusion du microbe sont d'au-



tant plus faciles que, chez les individus atteints, il ne se trouve pas seulement dans la cavité folliculaire. Les cheveux arrachés au pourtour de la plaque alopecique portent à leur surface, et jusqu'à une assez grande hauteur au-dessus de leur émergence, des amas parfois considérables de microcoques. D'autre part, les follicules privés de leurs poils et élargis sont le siège d'une sorte de desquamation incessante, dont les produits, contenant le parasite en abondance, arrivent naturellement à la surface du cuir chevelu. De là des conditions faciles à imaginer, qui permettent la dissémination du microbe et les contagions.

Les notions qui découlent de cet exposé sur l'existence d'une pseudo-pelade parasitaire apporteront sans doute quelque lumière dans la question si controversée de la contagiosité de la pelade; les uns l'établissent par des faits, les autres la nient et non sans fondements. En raison des similitudes cliniques que peuvent offrir l'une et l'autre maladie, il est légitime de penser que la confusion a dû être parfois commise, et que les exemples cités de transmission ou d'épidémies de pelade appartenaient réellement, non pas à cette dernière maladie encore inconnue dans sa cause, mais à la pseudo-pelade microbienne dont le parasite est facile à déceler.

---

## EXPLICATION DES FIGURES

### PLANCHE IX

Fig. 1. — *Cheveu arraché à la périphérie d'une plaque de pseudo-pelade.* A, B, débris de la gaine folliculaire recouverts par des amas de parasites.

Fig. 2. — *Follicule pileux sur une coupe de la peau excusée au niveau d'une plaque de pseudo-pelade* (Oc. 1, obj. 3 de Verick). A, gaine épithéliale externe normale; B, lamelles cornées formées aux dépens de la gaine épithéliale interne; C, amas de microcoques dans la cavité élargie du follicule.

Fig. 3. — *Segment d'un follicule pileux (Coupe de la peau).* (Obj. 1, oculaire 10 à immersion de Verick.) A, gaine épithéliale externe normale; B, gaine épithéliale interne transformée en lamelles cornées; C, amas de microcoques recouvrant les débris cornés qui encombrant la cavité du follicule.

---

## REVUES ET ANALYSES

---

### LA MORVE ET L'IMMUNITÉ MORVEUSE.

#### REVUE CRITIQUE.

STRAUS. Essais de vaccination contre la morve, *Archives de médecine expérimentale*, 1889, n. 4. — FINGER. Sur la question de l'immunité et de la phagocytose dans la morve, *Beiträge zur pathologischen Anatomie, etc.*, de M. Ziegler, t. VI, 1889. — LEO. Contribution à la théorie de l'immunité, *Zeitschrift für Hygiene*, t. VII, 1889. — ZAKHAROFF. Sur la production de l'immunité chez les chevaux contre la morve, *Comptes rendus des travaux spéciaux de l'Institut vétérinaire à Charkoff*, t. II, 1889 (publié en russe).

L'immunité des animaux pour la morve présente le plus haut intérêt au point de vue pratique aussi bien que théorique ; aussi a-t-elle été l'objet de recherches multipliées, faites dans différents pays de l'Europe. En ce qui concerne les espèces sujettes à cette maladie, on s'est demandé surtout s'il n'y avait pas moyen de leur communiquer l'immunité à l'aide d'inoculations préventives. Pour les espèces naturellement réfractaires à la morve, on a recherché les causes de cette immunité et les lois qui la dominent.

Après avoir démontré qu'en injectant des doses considérables du bacille de la morve dans les veines des chiens, ceux-ci contractent régulièrement la morve généralisée aiguë, M. Straus a prouvé ensuite que des doses faibles des mêmes cultures, introduites dans le sang, donnent aux chiens l'immunité contre la morve. Cependant les chiens ainsi vaccinés n'acquièrent une immunité absolue que vis-à-vis du virus injecté dans le sang. Inoculés sous la peau, ils restent sujets à la maladie, qui ne se manifeste que par une ulcération passagère et de peu d'importance.

M. Finger cherche à prouver que les lapins peuvent également acquérir une certaine immunité à la suite d'inoculations du bacille de la morve. Ainsi il affirme que les injections sous-cutanées, répétées plusieurs fois, n'occasionnent des nodosités typiques qu'après la pre-

mière inoculation, les suivantes ne donnant plus que des troubles locaux faibles ou presque nuls. Le même résultat peut être produit par une injection intraveineuse du virus, à la suite de laquelle une inoculation nouvelle du bacille sous la peau ne donne que des nodosités cutanées dont le développement reste incomplet. Quelquefois cette action préventive peut résulter même de l'inoculation intraveineuse d'une culture morveuse stérilisée par une ébullition de cinq minutes.

Il faut noter cependant que presque tous les animaux employés par M. Finger moururent de la morve et que son critérium d'immunité, à savoir le faible développement des nodosités après les inoculations vaccinales répétées, s'observait déjà lors de la marche progressive de la maladie, provoquée par la première injection du virus. Il ne lui est resté de vivants en résumé que deux lapins, dont un (dans l'expérience XXVIII) peut être considéré comme étant naturellement réfractaire, tandis qu'un autre (expérience XXII), contracta l'immunité après des inoculations de cultures stérilisées et virulentes plusieurs fois répétées et suivies d'une morve bénigne. Cet exemple nous montre donc que le lapin peut aussi acquérir l'immunité pour la morve.

M. *Zakharoff* affirme que le virus morveux, après plusieurs passages par l'organisme du chat, s'atténue vis-à-vis du cheval à tel point qu'il ne provoque plus chez lui qu'une affection bénigne, qui rend pourtant l'animal complètement réfractaire contre un virus fort. M. *Zakharoff* a traité ainsi plusieurs chevaux, dont deux ont été contrôlés par une inoculation avec un virus fort provenant d'un cheval atteint de morve naturelle aiguë. Cette inoculation n'a occasionné aucun trouble et n'a été suivie d'aucune réaction de la part des animaux inoculés.

Malheureusement M. *Zakharoff* ne dit point avoir fait l'inoculation d'épreuve à un cheval témoin non vacciné, ce qui enlève le caractère probant à son expérience principale.

Afin d'éclaircir la question du mécanisme de l'immunité acquise, M. Finger inocula des bacilles morveux sous la peau de lapins vaccinés avec des cultures stérilisées, par le procédé indiqué plus haut, et examina le sort des microbes introduits. Il put ainsi constater que ceux-ci restaient vivants pendant plus de deux jours, mais s'atténuaient bien avant ce terme. Ainsi la culture faite au moyen d'une goutte d'exsudat, retirée d'un lapin 48 heures après l'inoculation, ne tua un cobaye qu'au bout de 57 jours.

L'introduction des bacilles morveux sous la peau des lapins réfractaires était suivie de la formation d'un œdème qui s'infiltrait ensuite par des foyers de pus caséux. Les bacilles contenus dans cet exsudat présentèrent bientôt des signes de dégénérescence plus ou moins prononcée.



« Il était impossible, ajoute M. Finger (p. 42), d'étudier le rôle des leucocytes. Les chambres de *Ziegler* se remplissent tellement de ces cellules qu'on ne peut distinguer les détails de la situation des bacilles. Je dois mentionner cependant que l'examen microscopique du pus additionné d'une solution de chlorure de sodium ne démontra jamais de phagocytose. » Cet échec de M. Finger doit être attribué à sa méthode, dont l'insuffisance l'a frappé lui-même. Au lieu d'employer les chambres recommandées par M. *Hesse*, M. Finger en a employé dans lesquelles la lamelle était définitivement fixée au porte-objet, ce qui ne permettait point d'étaler le pus accumulé. Comme d'ailleurs, dans le cas de M. Finger, il se produisait des phénomènes locaux très prononcés, il eût été indispensable, au lieu d'introduire des chambres de verre sous la peau, de durcir le tissu infiltré et d'en faire des coupes convenablement colorées. Il n'eût pas été alors « impossible d'étudier le rôle des leucocytes ». Il n'y a, pour se convaincre de l'importance de ce changement dans l'application des méthodes pour obtenir des résultats sûrs et positifs, qu'à comparer les observations de M. Finger et de M. *Löffler* sur l'état des bacilles chez les animaux sensibles à la morve. Tandis que M. Finger, avec ses chambres de verre, n'a jamais pu voir la phagocytose chez les cobayes inoculés avec le bacille morveux, M. *Löffler*<sup>1</sup> a constaté, sur des coupes de nodosités de cobayes morveux, un nombre considérable de leucocytes contenant des amas de bacilles. Je pense donc que le résultat négatif de M. Finger est dû uniquement à l'insuffisance de sa méthode.

La même conclusion peut être appliquée également aux assertions de M. Finger sur l'immunité de la souris blanche, animal naturellement réfractaire contre la morve.

M. Finger introduit sous la peau des souris des chambres de *Ziegler*, modifiées par lui comme nous l'avons dit, et les retire ensuite au bout de 14 à 48 heures. Il constate ainsi que le nombre des leucocytes entrés dans la chambre était peu considérable, et que les cellules ne contenaient qu'une petite quantité de bacilles. La plupart de ceux-ci étaient dégénérés et se trouvaient en dehors des phagocytes. Cette dégénération commence aussitôt ( $3/4$  d'heure) après l'introduction des bacilles sous la peau, et dure 24 heures, terme après lequel aucun des bacilles ne se trouve plus à l'état vivant. Au vu de ces résultats, on se demande pourquoi M. Finger a attendu 14 heures avant de retirer les premières cellules de verre de sous la peau? Si on se souvient des faits constatés par M. *Hesse*, on verra que déjà trois heures après l'inoculation, la phagocytose peut être très prononcée. Je ne veux point affirmer que chez les souris inoculées avec le bacille

1. *Arbeiten aus dem K. Gesundheitsamte*, t. I, 1886, p. 172.



morveux, les phénomènes se passent de la même manière que chez les chiens inoculés par M. Hesse avec la bactériidie charbonneuse. Vu la délicatesse générale du bacille morveux, <sup>1</sup> il se pourrait bien que ce microbe ne soit point capable de végéter dans les humeurs de la souris blanche, et que les phagocytes de celle-ci n'aient alors affaire qu'à des bacilles impuissants par eux-mêmes. Mais il faut avouer que le travail de M. Finger n'éclaircit nullement ces questions. Son assertion que « la souris est non seulement un milieu inapte à la culture du bacille morveux, mais même un milieu vénéneux pour ce bacille » n'est nullement prouvée par lui. Il n'a même pas fait une seule expérience de culture du bacille dans les humeurs des souris.

L'immunité des souris blanches pour la morve n'est donc pas éclaircie par les recherches de M. Finger, et doit être soumise à des expériences et des observations nouvelles, basées sur des méthodes plus aptes à résoudre la question.

Puisque je suis conduit à me défendre contre l'attaque de M. Finger, je dois remarquer que cet auteur s'est fait une idée inexacte de la théorie des phagocytes, et m'attribue souvent des idées qui me sont complètement étrangères. Ainsi, par exemple, je n'ai jamais affirmé que « les humeurs de tous les animaux, mêmes des animaux réfractaires, constituent un milieu nutritif pour toutes les bactéries », comme le veut M. *Finger* (p. 380). Il n'est pas besoin de prouver longuement qu'il existe des bactéries, — même en dehors de celles dont les mœurs originales ont été révélées d'une manière si ingénieuse par M. *Winoogradsky*, — qui ne peuvent pas vivre dans les humeurs animales, comme il y a des bactéries qui ne supportent pas les conditions physiques présentées par beaucoup d'organismes.

Je dois encore protester contre M. Finger lorsqu'il m'attribue la pensée qu'une bactérie, une fois incorporée dans la cellule, doit inévitablement périr. Je me suis plusieurs fois prononcé dans le sens contraire, et souvent cité l'exemple de la septicémie des souris, du rouget des porcs et de la tuberculose, dans lesquelles les bacilles, malgré leur incorporation par les phagocytes d'animaux sensibles, restent vivants et aptes à se reproduire.

M. Finger combat donc souvent des idées que je suis le premier à rejeter et que je n'ai jamais défendues.

Du reste ce n'est point seulement vis-à-vis de moi que M. Finger est inexact. Ainsi il attribue (p. 420) à M. *Behring* la découverte que le sérum des rats blancs est un milieu favorable pour la bactériidie,

1. M. *Freudenreich* a démontré (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1888, p. 204) que le bacille de la morve ne se développe pas ou ne se développe que faiblement dans les bouillons de culture des autres microbes qu'il a étudiés.

tandis qu'en réalité M. Behring a affirmé justement le contraire. Plusieurs fois aussi M. *Finger* (p. 415, 419) remplace par le microbe de l'érysipèle le bacille du rouget des porcs dans le travail de MM. *Emmerich* et *di Mattei*, et affirme que ces auteurs ont prouvé la disparition du premier dans l'animal réfractaire au bout de 25 minutes. M. *Finger* cite aussi le choléra des poules parmi les maladies contre lesquelles on a trouvé un vaccin chimique, ce qui n'a jamais été démontré par personne.

Le travail de M. *Léo* se distingue sous tous les rapports de celui dont je viens de faire l'analyse. Par plusieurs séries d'expériences probantes, exécutées sous la direction et dans le laboratoire de M. *Koch*, M. *Léo* a démontré que les souris blanches, nourries avec de la phloridzine, perdent leur immunité naturelle contre la morve. Comme cette substance provoque le diabète chez les souris, M. *Léo* s'est demandé si ce n'était pas ce phénomène de melliturie qui produisait la réceptivité de ses animaux. Après avoir comparé la quantité de sucre dans l'organisme des souris des champs (animaux les plus sensibles à la morve) et dans celui des souris blanches réfractaires (c'est-à-dire non nourries avec de la phloridzine), M. *Léo* est arrivé à conclure que la réceptivité des premières n'a rien à faire avec la richesse en sucre.

M. *Léo* serait tenté de supposer que l'immunité des souris blanches pourrait être attribuée à l'action bactéricide du sang, action qui serait entravée par l'addition d'une substance étrangère comme la phloridzine. Il n'émet cette opinion que comme une simple hypothèse sans l'appuyer par des preuves directes. En discutant la question, il ne faut point oublier que la phloridzine peut exercer son influence non seulement sur le liquide sanguin, mais aussi sur les éléments cellulaires en général et les phagocytes en particulier. Peut-être aussi ne s'agit-il pas d'une influence directe sur les cellules de la phloridzine même, mais bien du sucre ou d'une autre substance quelconque dont elle provoquerait la formation. Il est démontré que les phagocytes sont doués d'une sensibilité souvent très prononcée vis-à-vis de différentes substances, qui peuvent modifier leur fonction d'une manière très prononcée.

Bien que l'étude de la morve ait accompli des progrès très marqués dans ces dernières années, il reste encore beaucoup à faire pour établir une théorie rationnelle de l'immunité dans cette maladie.

EL. METCHNIKOFF.

---



## INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE<sup>1</sup> DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — JUIN 1890.

	A		B		C	
Morsures à la tête { simples.....	»	2	»	»	»	»
et à la figure { multiples....	»	2	»	»	»	»
Cautérisations efficaces.....	»	»	»	»	»	»
— inefficaces.....	»	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation.....	2	»	»	»	»	»
Morsures aux mains { simples.....	»	22	»	17	»	8
et au tronc { multiples....	»	39	»	41	»	13
Cautérisations efficaces.....	1	»	3	»	3	»
— inefficaces.....	12	»	28	»	3	»
Pas de cautérisation.....	26	»	10	»	7	»
Morsures aux mem- { simples.....	»	6	»	12	»	5
brs et au tronc { multiples....	»	14	»	30	»	19
Cautérisations efficaces.....	2	»	5	»	2	»
— inefficaces.....	10	»	18	»	13	»
Pas de cautérisation.....	2	»	7	»	4	»
Habits déchirés.....	10	»	24	»	14	»
Morsures à nu.....	4	»	6	»	5	»
Morsures multiples en divers points du corps.....	»	2	»	9	»	3
Cautérisations efficaces.....	»	»	»	»	1	»
— inefficaces.....	»	»	6	»	»	»
Pas de cautérisation.....	2	»	3	»	2	»
Habits déchirés.....	1	»	5	»	2	»
Morsures à nu.....	2	»	9	»	3	»
Totaux. { Français et Algériens ..	»	56	»	56	»	28
Etrangers.....	»	1	»	24	»	7
	A		B		C	
TOTAL GÉNÉRAL.....			172			

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; la colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; la colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été : chiens, 154 fois; chats, 7 fois; cheval, 7 fois; âne, 3 fois. Dans un cas, la blessure a été faite par un enfant atteint de rage.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.